



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

DETERMINAÇÃO DO INTERVALO FISIOLÓGICO DE T₄ E TSH EM CÃO DE ÁGUA
PORTUGUÊS

MARA ALEXANDRA BATISTA NUNES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

PRESIDENTE:

Doutor António José de Freitas Duarte

VOGAIS:

Doutora Maria Teresa da Costa Mendes

Vitor Villa de Brito

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier

Félix Lourenço

ORIENTADORA:

Doutora Ana Mafalda Gonçalves

Xavier Félix Lourenço

2017

LISBOA





UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

DETERMINAÇÃO DO INTERVALO FISIOLÓGICO DE T_4 E TSH EM CÃO DE ÁGUA
PORTUGUÊS

MARA ALEXANDRA BATISTA NUNES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

PRESIDENTE:

Doutor António José de Freitas Duarte

VOGAIS:

Doutora Maria Teresa da Costa Mendes

Vitor Villa de Brito

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier

Félix Lourenço

ORIENTADORA:

Doutora Ana Mafalda Gonçalves

Xavier Félix Lourenço

2017

LISBOA

*A todos aqueles que sempre acreditaram que era capaz.
À minha família, namorado, amigos e à minha Tutti...
A todos os que, de uma maneira ou de outra, contribuíram para a realização desta etapa tão
importante e marcante na minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pelo apoio incondicional, por me terem conseguido oferecer este curso na perspetiva de um futuro melhor e por ser, em parte, um dos meus sonhos. Apesar da distância, estiveram sempre presentes com uma palavra de conforto. Obrigada pelo vosso papel na minha formação e educação, pois sem vocês tudo isto não teria sido possível e eu não seria aquilo que sou hoje. Obrigada por todo o amor. Amo-vos muito.

À minha irmã, obrigada por me fazeres sentir sempre na responsabilidade de não te desapontar. Obrigado por me teres deixado tomar conta de ti e por fazeres parte da minha vida. Sei que a distância foi complicada, mas vou estar sempre aqui para o que precisares.

Ao meu namorado, por me fazer acreditar que sou capaz, por apoiar incondicionalmente as minhas decisões e me fazer sentir especial todos os dias. Por tudo o que partilhamos e já vivemos, e pelas etapas que havemos de percorrer. Amo-te.

À minha orientadora, Professora Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix Lourenço, por todo o apoio. Obrigado pela idealização e desenvolvimento deste tema, pela confiança que depositou em mim e todos os ensinamentos que me transmitiu.

À Professora Doutora Berta São Braz pelo constante apoio, pois manteve sempre a porta aberta para me ajudar nos momentos mais difíceis.

Agradeço também a todo o pessoal do hospital: médicos veterinários, enfermeiros e auxiliares veterinários, técnicos, alunos e rececionistas com os quais tive a oportunidade de trabalhar e aprender ao longo do meu estágio curricular no Hospital Escolar. São sem dúvida o pilar desta instituição. Um especial obrigado aos enfermeiros que são sem dúvida o nosso “anjinho da guarda”. Um especial obrigado ao Doutor Gonçalo Vicente por me ter aceite como estagiária, por estar sempre disponível para nos ajudar e ensinar. Obrigada a todos os médicos.

Ao Mestre Hugo Pereira e à Mestre “Belinha” por todos os conselhos e por fazerem da dermatologia uma família.

Ao CIISA por ter apoiado financeiramente o projeto em que esta tese se baseia. Aos professores envolvidos no projeto que me deram bons conselhos e estiveram sempre disponíveis para me ajudar (Professor Doutor José Henrique, Professora Doutora Teresa Mendes Victor e Professora Doutora Luísa Mateus).

Ao Laboratório Professor Dr. Braço Forte (Doutora Alexandra, Doutora Vera e Doutora Salomé).

Ao Professor Doutor Telmo Nunes pela ajuda excecional, muito além das suas obrigações, na organização dos milhões de dados que uma tese envolve; e à Professora Doutora Ilda Rosa pela ajuda disponibilizada.

Obrigada ao Doutor Rodolfo Leal, pela ajuda e esclarecimento de dúvidas.

Aos criadores e tutores de Cão de Água Português pois sem eles este trabalho não teria sido possível. Um obrigado ao Dr. Hugo Oliveira pela incansável ajuda que nos disponibilizou.

Às minhas melhores amigas de infância, Inês e Soraia, que apesar da distância estiveram sempre presentes.

Dizem que os anos de faculdade são os melhores da nossa vida por isso só posso agradecer aos meus amigos de faculdade e de estágio por terem feito parte deles. Às minhas amigas de faculdade, Joana, Marta, Catarina, Vanessa e Maria. Obrigada por todos os momentos de amizade, carinho e apoio. Obrigado por terem sido os pilares que me permitiram chegar onde cheguei. Ao fim de 6 anos aqui estamos nós a acabar mais esta etapa das nossas vidas. Ao David por todos os conhecimentos que me transmitiu e ajuda em períodos críticos. Obrigado a todos os colegas de turma, cujo nome não mencionei.

Aos meus colegas de estágio. Se podíamos ter sido um grupo melhor? Não, não podíamos. Fomos o melhor grupo que alguma vez podia ter pedido. Desde amizade, companheirismo, palhaçadas, jantares... Por isso tenho a agradecer a todos: ao Telmo (o meu companheiro da dermatologia e um apoio incondicional durante todo o estágio), ao Rúben (pelas cantorias e boa disposição), ao Luís (divertido e companheiro), à Inês Machado (piométrica), ao Francisco (o nosso oftalmologista preferido), à Sara (a infectinha), à Flo (a compincha Algarvia), à Mafalda (a menina da Babesia), à Inês Afonso (a nossa noiva), à Mónica (a nossa mãezinha), à Raquel (a outra baixinha), à Bárbara (a nossa fit), à Mariana (a pró dos exóticos), ao Gonçalo (o rapaz das cirurgias)...e não me esqueço de ti Tiago (que me fez companhia nas horas infundáveis de isolamento). Acredito que fiz amigos para a vida e, mesmo que as nossas vidas tenham percursos diferentes, vou levar-vos a todos no meu coração.

À minha madrinha de faculdade por todos os conselhos e apontamentos preciosos que me forneceu e que me ajudaram muito durante todo o meu percurso académico.

Aos meus avós, tios e primos por terem contribuído para que crescesse como pessoa.

Aos pais do meu namorado por me terem recebido e à Tutti de braços abertos, e por me fazerem sentir em casa. Ao Sr. João, pois, apesar de fazer parte da minha vida há pouco tempo, já o considero parte da família. Um grande beijinho.

À Milla por ter recebido uma “estranha” na sua casa. Por todos os passeios que demos, todas as gargalhadas, todos os momentos bons que partilhamos nestes 5 anos. Só nos podíamos dar bem, duas gémeas despassaradas. Fica sempre com a recordação do Algarve (Lua). Obrigada também ao Sr. Rui por toda a amizade.

Por último e não menos importante, agradeço a todos os meus amigos de 4 patas: à minha Tutti que esteve sempre presente. Durante as longas horas, meses de estudo foi ela que me aqueceu o colo e que me deu muitas lambidelas de força e coragem. À Ginja, ao Branquinho, à Mel, à Milka, ao Ruby e à Moka, que me inspiraram e deram força para dar sempre o meu melhor e me tornar uma boa profissional, uma Médica Veterinária a sério!

RESUMO

Determinação do intervalo fisiológico de T₄ e TSH no Cão de Água Português

O Cão de Água Português é uma das raças portuguesas mais populares no país e no mundo, com predisposição para várias doenças incluindo o hipotireoidismo, uma das doenças endócrinas caninas mais comuns, mas também uma das mais sobrevalorizadas. No cão, o diagnóstico de hipotireoidismo, baseia-se na história clínica, nos sinais clínicos e na medição das concentrações sanguíneas das hormonas da tiroide e hipofisária (TSH) e sua posterior comparação com os intervalos de referência laboratoriais. É cada vez mais evidente que a raça é um dos fatores que mais pode influenciar os intervalos de referência para uma ampla gama de medidas clínicas e laboratoriais, incluindo a determinação das concentrações hormonais. Vários estudos têm demonstrado que as concentrações séricas das hormonas da tiroide, de diferentes raças de cães, diferem significativamente dos intervalos de referência não específicos, podendo também ser influenciadas por outros fatores, incluindo a idade, o tamanho, a presença de doenças concomitantes, a administração de determinados fármacos, entre outros. Para avaliar a existência de intervalos de referência específicos para o Cão de Água Português, procedeu-se à medição das concentrações séricas de tiroxina (T₄) e tirotrofina (TSH) no soro de 99 cães desta raça saudáveis, com idades compreendidas entre os 6 meses e os 10 anos, machos e fêmeas, castrados ou não. Foi realizado um questionário aos tutores dos cães, de modo a aferir sobre o estado hígido dos mesmos, incluindo critérios de inclusão e exclusão. Os animais incluídos no estudo foram avaliados quanto à presença/ausência de doenças concomitantes através da história clínica, exame físico, hemograma e doseamento de colesterol. As concentrações séricas de T₄ e TSH foram avaliadas a partir de amostras de 5 ml sangue e através do uso de kits comerciais, e os intervalos de referência foram deduzidos após análise estatística. As concentrações de tT₄ variaram de 0,8 a 2,4 µg/dL, com uma média ± DP de 1,64 ± 0,47 e as concentrações de TSH variaram de 0,0 a 0,5 ng/mL, com uma média ± DP de 0,17 ± 0,24. Verificou-se que 18,95% dos animais apresentaram valores de tT₄ abaixo do intervalo de referência laboratorial. O aumento da idade esteve associado a uma diminuição e a um aumento das concentrações de tT₄ e de TSH, respetivamente. Não foram detetadas diferenças significativas em função do género, porém, detetaram-se diferenças significativas na concentração de TSH em animais esterilizados (fêmeas). Os cães da raça Cão de Água Português apresentam valores fisiológicos de tT₄ e de TSH inferiores aos valores de referência laboratoriais, pelo que se reforça a importância do uso de intervalos laboratoriais específicos para as raças.

Palavras-chave: Tiroxina (T₄), Tirotrofina (TSH), Hipotireoidismo, Intervalos de referência (RIs), Cão de Água Português

ABSTRACT

Determination of reference intervals of thyroid (tT₄ and TSH) in Portuguese Water Dog

The Portuguese Water Dog is one of the most popular portuguese breeds in the country and around the world. Several diseases are described in this breed, including hypothyroidism. This disease is one of the most common canine endocrine diseases, but also the most overdiagnosed one. Diagnosis of hypothyroidism in dogs is based on patient medical history, clinical signs and measure of thyroid and pituitary hormone's blood concentration and comparison of those values with laboratorial reference intervals (RIs). It is becoming clear that breed can strongly influence the reference intervals for a wide range of clinical and laboratory measurements, including hormone assay determination. Several studies demonstrated that serum concentrations of thyroid hormones from different dog breeds differ significantly and the same concentrations can be influenced by several other factors, including age, size, concomitant diseases, drugs, among others. In this way, thyroxine (T₄) and thyrotropin (TSH) serum concentrations were measured in serum from 99 healthy Portuguese Water Dogs to determine whether breed specific reference intervals are warranted. Selection of 99 healthy dogs from Portuguese Water Dog breed, consisting of individuals between 6 months to 10 years old, males and females, neutered or not; a health questionnaire was performed to dogs owners, including animal inclusion and exclusion criteria. Animals included for the study was be further evaluated concerning presence/absence of concomitant disease by their clinical history, physical examination, complete blood cell count and serum cholesterol concentration. Serum T₄ and TSH concentrations from healthy animals were evaluated from 5 ml of blood using commercial test kits. Reference intervals were deduced after statistical analysis of the results obtained. tT₄ concentrations ranged from 0,8 to 2,4µg/dL, with a mean ± SD of 1,64 ± 0,47µg/dL. Importantly 18/95 (18,95%) of tT₄ values were lower than the normal laboratory reference range (1,3 – 2,9 µg/dL). TSH concentrations ranged from 0,0 to 0,5ng/mL (normal laboratory reference range 0,0 – 0,65ng/mL), with a mean ± SD of 0,17 ± 0,24ng/mL. Increasing age was associated with decreasing tT₄ and increasing TSH concentrations. No significant differences were detected by sex. Significant differences were detected for TSH in neutered animals, namely in females.

Portuguese water dogs have a lower reference range for tT₄ and TSH. Use of breed-specific RIs in combination with careful attention to the potential for pre-analytical and analytical variability in tests results will improve thyroid function assessment in Portuguese Water Dog.

Keywords: Thyroxine (T₄), Thyrotropin (TSH), Hypothyroidism, Reference intervals (RIs), Portuguese Water Dog

ÍNDICE GERAL

Dedicatória.....	i
Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vii
Índice Geral.....	ix
Lista de figuras.....	xi
Lista de tabelas.....	xi
Lista de gráficos.....	xi
Lista de abreviaturas, siglas, unidades e símbolos.....	xii
Capítulo I – Relatório de Estágio Curricular.....	1
1. Introdução.....	1
2. Atividades desenvolvidas.....	2
2.1 Medicina Interna.....	2
2.2 Cirurgia.....	4
2.3 Imagiologia.....	5
2.4 Internamento.....	5
2.5 Unidade de Doenças Infeto-Contagiosas.....	6
2.6 Laboratório de Endocrinologia e Reprodução da FMV-ULisboa.....	6
2.7 Comunicações Orais.....	6
Capítulo II – Introdução.....	8
Capítulo III – O Cão De Água Português.....	12
Capítulo IV - Revisão bibliográfica sobre Hipotiroidismo Canino.....	15
1. A Glândula Tiroide.....	15
1.1 Síntese e secreção de hormonas tiroideias.....	16
1.2 Transporte, entrada nos tecidos, metabolização e ações das hormonas tiroideias.....	17
1.3 Regulação da função tiroideia.....	18
2. Etiopatogenia do Hipotiroidismo.....	19
2.1 Hipotiroidismo Congénito.....	19
2.2 Hipotiroidismo Adquirido Central.....	20
2.3 Hipotiroidismo Adquirido Primário.....	20
2.3.1 Tiroidite Linfocítica.....	21
2.3.2 Atrofia Idiopática da tiroide.....	24
3. Síndrome autoimune poliglandular.....	24
4. Epidemiologia do Hipotiroidismo.....	25
5. Sinais clínicos de Hipotiroidismo.....	25
5.1 Sinais Metabólicos.....	26
5.2 Sinais Dermatológicos.....	27
5.3 Sinais Cardiovasculares.....	29
5.4 Sinais Neuromusculares.....	31
5.5 Sinais Oftalmológicos.....	33
5.6 Sinais Reprodutivos.....	34
5.7 Outros sinais clínicos.....	35
6. Diagnóstico de Hipotiroidismo.....	35
6.1 Alterações clinico patológicas.....	36
6.1.1 Hemograma.....	36
6.1.2 Perfil Bioquímico.....	37
6.2 Testes endócrinos.....	38
6.2.1 Concentração sérica de tiroxina total (tT ₄).....	38
6.2.2 Concentração sérica de tiroxina livre (IT ₄).....	39
6.2.3 Concentração sérica de triiodotironina total (tT ₃).....	40
6.2.4 Concentração sérica de tirotrofina basal (TSH).....	41
6.2.5 Teste de estimulação com TSH.....	43
6.2.6 Teste de estimulação com TRH.....	43

6.3	Diagnóstico de tiroidite linfocítica	44
6.3.1	Anticorpos anti tiroglobulina (TgAAs)	44
6.3.2	Biópsia da tiroide	46
6.4	Diagnóstico Imagiológico.....	46
6.4.1	Radiografia da tiroide	46
6.4.2	Ultrassonografia da tiroide	46
6.4.3	Tomografia computadorizada e ressonância magnética da tiroide	47
6.4.4	Cintigrafia	47
7.	Efeito de doenças não tiroideias (NTI) na concentração de hormonas tiroideias	48
8.	Efeito dos fármacos na função tiroideia	50
9.	Tratamento e monitorização terapêutica	53
10.	Prognóstico.....	55
Capítulo IV– Projeto de Investigação: Determinação do intervalo fisiológico de T ₄ e TSH em Cão de Água Português		57
1.	Introdução	57
2.	Objetivos	58
3.	Materiais e Métodos.....	58
3.1	Critérios de seleção da amostra.....	58
3.2	Colheita de sangue e análises sanguíneas	59
3.2.1	Medição das concentrações de tT ₄ e TSH.....	60
3.3	Análise estatística.....	60
4.	Resultados	61
4.1	Caracterização da amostra em estudo	61
4.2	Avaliação das concentrações de tT ₄ e TSH.....	62
4.2.1	Obtenção do intervalo de referência de tT ₄ e TSH no Cão de Água Português	63
4.3	Relação dos resultados das hormonas tiroideias com a idade	63
4.4	Relação dos resultados das hormonas tiroideias com o género.....	64
4.5	Relação dos resultados das hormonas tiroideias com a esterilização.....	64
4.6	Relação dos resultados das hormonas tiroideias com o período do dia em que foram realizadas as colheitas de sangue.....	65
4.7	Relação dos resultados das hormonas tiroideias com a distribuição geográfica dos animais.....	66
5.	Discussão.....	66
5.1	Animais excluídos do estudo.....	66
5.2	Caracterização da amostra populacional	68
5.3	Limitações do estudo.....	73
Capítulo V - Conclusões e perspetivas futuras		74
Bibliografia		76
Anexo 1 – Estalão do Cão de Água Português (CPC, 2008)		90
Anexo 2 - Questionário realizado aos tutores de Cão de Água Português, como componente de recolha de informação individual		95
Anexo 3 –Resultados: animais, idade, género/esterilização e doseamentos de tT ₄ e TSH...97		

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Caso clínico de hiperqueratose nasodigital em Labrador <i>Retriever</i>	3
Figura 2 - Caso clínico de pênfigos foliáceo de origem medicamentosa.....	3
Figura 3 - Resolução cirúrgica de carcinoma espinocelular em gato	4
Figura 4 - Diversidade morfológica entre raças humanas.....	9
Figura 5 - Diversidade morfológica entre raças caninas	10
Figura 6 - Cão de Água Português	12
Figura 7 - Imagem ilustrativa da participação do Cão de Água a bordo dos navios	13
Figura 8 - Imagem histológica de glândula tiroide normal em cão.....	15
Figura 9 - Esquematização da regulação da função tiroideia	18
Figura 10 - Lesões cutâneas em animal com hipotireoidismo	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estádios da Tiroidite Linfocítica Canina	22
Tabela 2 - Sinais clínicos associados ao Hipotireoidismo.....	26
Tabela 3 - Critérios de inclusão e exclusão para a amostra em estudo	59
Tabela 4 - Caracterização dos animais excluídos do estudo e respetivos doseamentos hormonais	61
Tabela 5 - Valores de tT_4 e de TSH na amostra de 95 cães e respetivo intervalo de referência para a raça Cão de Água Português.....	63

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Distribuição do número de horas realizado pela estagiária durante o período de estágio curricular nos serviços do HEV da FMV-ULisboa	1
Gráfico 2 - Distribuição da amostra em estudo em relação ao género e à esterilização dos animais.....	62
Gráfico 3 - Variação da concentração de tT_4 ($\mu\text{g/dL}$) em relação à idade dos animais	63
Gráfico 4 - Variação da concentração de TSH (ng/mL) em relação à idade dos animais	63
Gráfico 5 – Concentração de tT_4 ($\mu\text{g/dL}$) em função do género do animal.....	64
Gráfico 6 – Concentração de TSH (ng/mL) em função do género do animal.....	64
Gráfico 7 – Concentração de tT_4 ($\mu\text{g/dL}$) de acordo com o estado reprodutivo do animal	65
Gráfico 8 – Concentração de TSH (ng/mL) de acordo com o estado reprodutivo do animal	65

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, UNIDADES E SÍMBOLOS

^{131}I	Iodo radioativo
$^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$	Pertecnetato radioativo
AAS	Ácido Acetilsalicílico
AINES	Anti-inflamatórios não-esteróides
AITD	<i>Autoimmune thyroid diseases</i> (doenças autoimunes da tiroide)
ALT	Alanina aminotransferase
APS	<i>Autoimmune Polyendocrine Syndromes</i>
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina Trifosfato
ATPase	Adenosina trifosfatase
BID	A cada 12 horas (significa <i>bis in die</i>)
CEBEA	Comissão de Ética e Bem-Estar Animal
CIISA	Centro de Investigação Interdisciplinar de Sanidade Animal
CK	Creatinina quinase
CLT	<i>Canine Lymphocytic thyroiditis</i> (Tiroidite Linfocítica Canina)
CMD	Cardiomiopatia dilatada
CPC	Clube Português de Canicultura
cTSH	TSH canina
DIT	Diiodotirosina
DLA	<i>Dog leukocyte antigen</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECG	Electrocardiograma
ED	Diálise de Equilíbrio
EDTA	<i>Ethylenediamine tetra-acetic acid</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EPI	Equipamento de Proteção Individual
EPO	Eritropoetina
EUA	Estados Unidos da América
FAS	Fosfatase Alcalina
FCI	Federação Cinológica Internacional
FMV	Faculdade de Medicina Veterinária
GGT	Gamaglutamiltransferase
HD	<i>Hashimoto's disease</i> (Doença de Hashimoto's)
HEV	Hospital Escolar Veterinário
IL	Interleucina

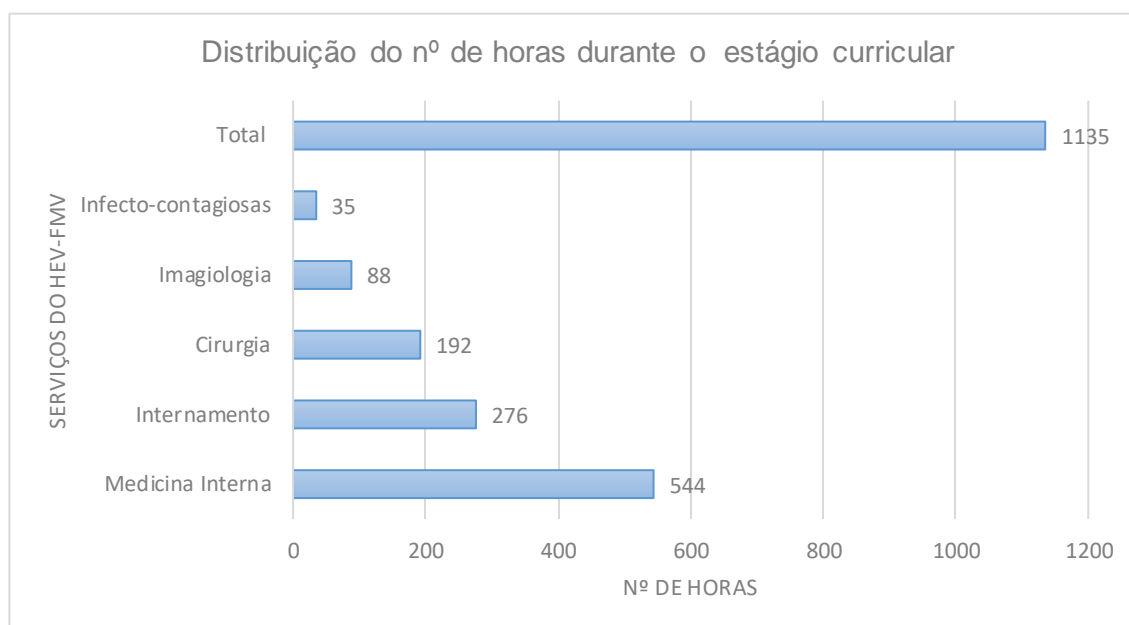
IV	Intravenosa
LDH	Lactato de desidrogenase
LOP	Livro de Origem Portuguesa
IT ₃	Triiodotironina livre
IT ₄	Tiroxina livre
<i>l</i> -tiroxina	Levotiroxina
MCSA	<i>Maximum Cross-sectional Surface Area</i>
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>
MIT	Moniodotirosina
NTI	<i>Nonthyroidal illness</i> (ou doença não tiroideia)
PAAF	Punção aspirativa por agulha fina
PO	<i>Per os</i>
rhTSH	TSH recombinante humana
RI _s	Intervalos de Referência
RIA	Radioimunoensaio
RM	Ressonância magnética
rT ₃	T ₃ reversa
SID	A cada 24 horas (significa <i>semel in die</i>)
SNC	Sistema Nervoso Central
T ₃	Triiodotironina
T ₃ AA	Anticorpos anti-T ₃
T ₄	Tiroxina ou Tetraiodotironina
T ₄ AA	Anticorpos anti-T ₄
TBG	<i>Thyroid hormone-binding globulin</i>
TBPA	<i>Thyroxine-binding pre-albumin</i> (transtiretina)
TC	Tomografia Computorizada
Tg	Tiroglobulina
TgAAs	<i>Thyroglobulin autoantibodies</i> (autoanticorpos antitiroglobulina)
THAA	Autoanticorpos anti-hormonas da tiroide
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alfa</i>
TPO	<i>Enzyme Thyroid Peroxidase</i> (Tiroperoxidase)
TRH	<i>Thyrotropin-releasing hormone</i> (hormona de libertação de tirotropina)
TSH	<i>Thyroid-stimulating hormone</i> ; (tirotrofina hipofisária)
tT ₃	Triiodotironina total
tT ₄	Tiroxina total
UL	Universidade de Lisboa
vWf/Ag	Factor antigénio <i>von Willebrand</i>

CAPÍTULO I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR

1. Introdução

O estágio curricular foi realizado no Hospital Escolar Veterinário (HEV) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL), entre setembro de 2016 e março de 2017, com uma carga horária total de 1135 horas, sob a orientação da Professora Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix Lourenço, e com a supervisão do Mestre Hugo Pereira. As atividades foram estruturadas com base numa rotatividade mensal pelos serviços disponibilizados pelo Hospital Escolar, incluindo 5 áreas distintas: medicina interna (turnos de 8h), cirurgia (turnos de 8h), imagiologia (turnos de 8h), internamento (turnos de 12h em horário diurno e noturno) e unidade de doenças infecto-contagiosas (turnos de 5h) (Gráfico 1).

Gráfico 1- Distribuição do número de horas realizado pela estagiária durante o período de estágio curricular nos serviços do HEV da FMV-ULisboa.



As funções desempenhadas nas diferentes áreas foram supervisionadas e acompanhadas por médicos veterinários, enfermeiros veterinários, auxiliares e professores, e ainda contaram com a participação de alunos de 3º, 4º e 5º anos do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária.

Relativamente às atividades desenvolvidas na obtenção das amostras para a presente dissertação, decorridas entre maio e julho de 2017, a estagiária teve a oportunidade de desenvolver as suas competências sociais, através do contacto com criadores e tutores de cães da raça Cão de Água Português, de enriquecer as suas capacidades de diagnóstico de

doenças através da realização de exames físicos completos, tendo sido ainda responsável pela realização das colheitas de sangue em cães da raça mencionada, distribuídos por vários pontos do país e seu posterior processamento.

2. Atividades desenvolvidas

Seguidamente será apresentada uma breve descrição das atividades desenvolvidas pela estagiária nos vários serviços disponibilizados pelo HEV da FMV-ULisboa durante o estágio curricular.

2.1 Medicina Interna

Neste serviço, a estagiária teve a possibilidade de assistir e participar ativamente em consultas de medicina geral, preventiva e de especialidade de animais de companhia bem como de animais exóticos, incluindo consultas de primeira e segunda opinião, e consultas de referência nas várias especialidades disponíveis no HEV: cardiologia, dermatologia, oftalmologia, oncologia, ortopedia, neurologia, endocrinologia, estomatologia e odontologia, reprodução e obstetrícia, acupunctura e comportamento animal.

No âmbito da consulta, a estagiária foi responsável pela realização da anamnese, realização do exame físico global e específico, discussão com o clínico responsável sobre os diagnósticos diferenciais mais prováveis e pelo estabelecimento do plano de diagnóstico e terapêutico para o caso em questão. Participou ainda em diversos procedimentos: contenção do animal, vacinação e desparasitação (elaboração e explicação dos esquemas vacinais e de desparasitação aplicados à situação), colocação de microchip, preparação e administração de fármacos por via oral e injetável (subcutânea, intramuscular e endovenosa), colheita de amostras biológicas (colheita de sangue venoso periférico, colheita de urina por algáliação, zaragatoas nasais, orais, auriculares, vaginais entre outras), venopunção para colocação de cateteres e sistemas de venóclise, limpeza e observação do conduto auditivo externo, limpeza e desinfeção de feridas, execução de pensos simples, punções aspirativas com agulha fina (PAAF) entre outros, sob a supervisão do médico veterinário assistente. Integrou ainda a equipa de triagem e participou na abordagem a urgências médico veterinárias (paragem cardiorrespiratória, convulsões, reações anafiláticas, choque séptico, golpe de calor, entre outros).

O serviço de medicina interna revelou ser bastante útil na consolidação dos conhecimentos adquiridos ao longo do curso, e no desenvolvimento das capacidades respeitantes à comunicação com o tutor do animal, esquematização na elaboração da história pregressa e do exame físico completos e ainda na abordagem diagnóstica e terapêutica do paciente.

Dermatologia

As consultas de especialidade mais acompanhadas foram as de dermatologia onde a estagiária teve a oportunidade de realizar a anamnese do paciente, o exame dermatológico sistemático, a recolha de amostras biológicas (citologias cutâneas, raspagens cutâneas superficiais e profundas, tricogramas, citologias auriculares e biópsias cutâneas), com posterior observação ao microscópio das amostras colhidas. Participou ainda na discussão de casos clínicos (Figuras 1 e 2) e na realização de testes alergológicos intradérmicos sob supervisão do médico veterinário responsável pelo serviço.

Figura 1- Caso clínico de hiperqueratose nasodigital em Labrador *Retriever* (fotografias originais)



Figura 2 - Caso clínico de pênfigos foliáceo de origem medicamentosa (fotografias originais)



2.2 Cirurgia

Nesta área, foi possível, por parte da estagiária, a observação de cirurgias eletivas e de urgência, em diversas áreas, nomeadamente cirurgia geral (herniorrafia perianal, colocação de tubo de esofagostomia ou de traqueostomia, resolução de carcinoma espinocelular em gato – Figura 3), cirurgia da cavidade oral (destartarizações, extrações dentárias, odontoplastia em cobaios), cirurgia do aparelho génito-urinário (orquiectomias, ovariectomias, resolução de piómetra, cistotomia, cesariana, colocação de stent SUB), cirurgia da cavidade abdominal (esplenectomia, enterectomia, laparotomia exploratória, biópsias seriadas de intestino e linfonodos mesentéricos, gastropexia), cirurgia ortopédica (amputação de cauda ou de dígito, osteossíntese de ossos longos, resolução de hérnia discal, resolução de rutura de ligamento cruzado do joelho), cirurgia oftálmica (exérese de neoformações palpebrais, resolução de “cherry eye”, cirurgia de cataratas, correção de distiquíase, correção de entrópion) e cirurgia oncológica (exérese de nódulos cutâneos, neoplasias das glândulas hepatóides, mastectomias, exérese de massa neoplásica gengival e de tumores testiculares).

A estagiária teve como responsabilidade a confirmação dos requisitos para a realização da cirurgia (jejum, análises, entre outros), receção do animal, preenchimento da ficha de internamento, cateterização venosa do paciente, cálculo da dosagem, preparação e administração da medicação pré-anestésica e indutora da anestesia, tricotomia, limpeza e assepsia da região a ser intervencionada, entubação endotraqueal e monitorização anestésica do paciente (mucosas, pulso, frequências cardíaca e respiratória, entre outros). No decorrer da cirurgia pôde ocupar uma de várias funções incluindo: circulante, anestesista, instrumentista e ajudante de cirurgião, tendo sido permitida a sua participação em intervenções cirúrgicas de menor complexidade como destartarizações em cão, orquiectomias em gato, suturas de aproximação dos planos musculares e subcutâneos, suturas de pele e suturas da cavidade oral.

Figura 3 – Resolução cirúrgica de carcinoma espinocelular em gato (fotografia original)



No pós-operatório, foi função da estagiária vigiar a recuperação anestésica do animal e informar telefonicamente, os tutores do sucesso da cirurgia, preencher a respectiva folha de alta com o planeamento da terapêutica, bem como a especificação/indicações dos cuidados médicos a ter, consoante o tipo de intervenção realizada.

As consultas de seguimento consistiram na avaliação da sutura e sua desinfeção, renovação do penso cirúrgico e eventual remoção de pontos.

Foi ainda possível assistir à realização de endoscopias, sobretudo colonoscopias, rinoscopias e vídeo-otoscopias, tendo sido a estagiária responsável por toda a preparação necessária para a realização do exame em questão.

2.3 Imagiologia

No Hospital Escolar da FMV o diagnóstico por imagem pode ser realizado através de radiografia digital, tomografia computadorizada (TC) e ecografia. Em radiologia a estagiária teve a oportunidade de pôr em prática os conhecimentos adquiridos ao longo do curso, principalmente no que diz respeito à contenção e posicionamento do animal, escolha das constantes radiográficas mais adequadas e posterior interpretação das radiografias. No exame tomográfico, participou na cateterização venosa do paciente, indução, manutenção e monitorização anestésica, posicionamento do animal, acompanhamento no recobro e posteriormente interpretação e discussão das imagens obtidas. Finalmente, o exame ecográfico, possibilitou à estagiária a preparação (tricotomia) e contenção do animal, iniciação do exame de forma sistemática, assistência em procedimentos ecoguiados (exemplo: punção aspirativa por agulha fina de baço, biópsias hepáticas, pericardiocenteses, abdominocenteses e colheita de urina por cistocentese) e por fim discussão dos diagnósticos diferenciais mais prováveis face às alterações observadas durante o exame ecográfico.

2.4 Internamento

Nesta unidade os turnos tiveram sempre a duração de 12 horas (diurnos e noturnos) de modo a possibilitar o acompanhamento contínuo dos pacientes internados. No início do turno foi feita uma exposição, por parte do Médico Veterinário responsável, dos casos clínicos e uma discussão sobre o curso clínico, os tratamentos e o plano a seguir em cada caso.

Todas as atividades desenvolvidas permitiram à estagiária ganhar autonomia na realização das várias tarefas, desenvolver a capacidade de organização e gestão do trabalho, assim como ser crítica face às escolhas efetuadas para os diferentes pacientes. As principais funções desempenhadas pela estagiária foram: a monitorização dos doentes internados (mucosas, tempo de repleção capilar, temperatura rectal, pulso e auscultação cardiopulmonar), cuidados básicos de saúde, higiene e bem-estar, passeio e alimentação dos animais, preparação e administração de alimentação entérica, preparação e administração de

medicação oral, conjuntival e injetável de acordo com as indicações do médico responsável, determinação da taxa de fluidoterapia mais adequada a cada caso, auxílio na realização das notas de alta e explicação/indicações aos tutores dos animais dos cuidados a ter, cateterização venosa, oxigenoterapia, toracocentese (e observação da colocação de dreno torácico), abdominocentese, colocação de sonda nasoesofágica de alimentação, algaliação de cães e gatos, colheita de sangue, urina e outras amostras biológicas, medição das curvas de glicemia, preparação e realização de enemas, pequenas sessões de fisioterapia, contenção dos animais, e outros serviços de enfermagem como limpeza e desinfecção de feridas e realização de pensos simples. Teve também a possibilidade de assistir a colheitas de líquido cefalorraquidiano, procedimentos de eutanásia em pacientes terminais e por fim assistir e auxiliar na reanimação de animais em estado crítico, de modo a saber atuar de forma rápida e eficaz, na presença de situações idênticas.

2.5 Unidade de Doenças Infeto-Contagiosas

Nesta unidade, em ambiente controlado e de risco biológico elevado, são alojados os animais com doenças infectocontagiosas. A estagiária teve como funções as mesmas realizadas no internamento geral, no entanto, foram adotados cuidados especiais para o cumprimento das regras obrigatórias de biossegurança da unidade. Estas regras incluíram, a utilização constante de equipamento de proteção individual (EPI) descartável, nomeadamente bata, touca, luvas, máscara cirúrgica, proteção de calçado e óculos de proteção; limpeza e assepsia das mãos antes da entrada na unidade, entre pacientes e entre salas de internamento e à saída da mesma, assim como a troca de EPI entre pacientes e salas de modo a evitar contaminações cruzadas. A estagiária pôde presenciar casos clínicos de parvovirose, esgana e leptospirose caninas, panleucopénia felina, peritonite infecciosa felina, síndrome da imunodeficiência felina e da leucemia felina, herpesvirose e calicivirose felinas, e pôr em prática os protocolos terapêuticos preconizados para cada situação.

2.6 Laboratório de Endocrinologia e Reprodução da FMV-ULisboa

A componente laboratorial decorreu no Laboratório de Endocrinologia e Reprodução da FMV-ULisboa, sob a orientação da Professora Doutora Luísa Mateus. Esta componente permitiu à estagiária uma familiarização com os métodos utilizados na determinação das concentrações hormonais, que serviram de base à elaboração da presente dissertação.

2.7 Comunicações Orais

Durante o estágio, foi permitida a participação em palestras com temáticas relevantes na prática clínica (exemplo: emergências médico veterinárias) e relacionadas com novos produtos na área da Medicina Veterinária (exemplo: desparasitantes, vacinas, entre outros).

Durante o período de estágio, os estagiários estiveram envolvidos na realização de uma apresentação oral para o corpo clínico do HEV, sobre diversos temas de interesse clínico. Por parte da estagiária foi feita a apresentação do tema “Abordagem prática à dermatologia veterinária” com a duração de aproximadamente 1 hora, que abordou o exame dermatológico geral e mais concretamente a dermatite atópica canina (etiologia, diagnóstico e pilares do tratamento).

A estagiária participou ainda no “*Book Club*”, encontro quinzenal com colegas e médicos do hospital escolar, que consistiu na leitura e discussão de artigos e de capítulos do livro “*Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the dog and cat* (8th ed.) – Ettinger”, relacionados com temas escolhidos pelos estagiários.

CAPÍTULO II – INTRODUÇÃO

Os primeiros mamíferos tiveram origem há aproximadamente 100 milhões de anos, o primeiro canídeo há cerca de 50 milhões de anos, enquanto que os primeiros homínídeos tiveram origem muito mais recentemente, há cerca de 3 milhões de anos (Royal Canin, 2012).

A evolução e diversificação dos canídeos, mamíferos pertencentes à ordem dos carnívoros, teve início na era terciária, no continente norte-americano com o aparecimento de uma família de carnívoros semelhantes à doninha atual, os miacídeos. Estes, foram sendo progressivamente substituídos pelos canídeos, cuja divisão atual consiste em três subfamílias: os cuonídeos (*Ilicaon*), os octocionídeos (*octocion* da África do Sul) e os canídeos (cão, lobo, chacal, raposa, coioite) (Vila, Maldonado, & Wayne, 1999; Wayne & Ostrander, 1999; Royal Canin, 2012).

Durante muitos anos, várias teorias tentaram atribuir a uma destas espécies: lobo (*Canis lupus*), coioite (*Canis latrans*) ou chacal (*Canis aureus*), a qualidade de antepassado do cão. Parecia lógico que o cão doméstico pudesse ter descendido de um destes canídeos selvagens preexistentes, porém esta associação nunca foi assim tão simples. Outras teorias avançaram a hipótese de que raças de cães tão distintas poderiam descender de espécies diferentes do mesmo género *Canis*. Todavia, nos dias de hoje, a teoria mais aceite é a de que o cão descende diretamente do lobo (Pires et al., 2006; Vila et al., 1999; Royal Canin, 2012).

Com o avanço da genética e em particular da sequenciação do genoma canino foi possível verificar que os genes do lobo e do cão só diferem em cerca de 0,2% (face à diferença de 1% entre o genoma do chimpanzé e do Homem). O aparecimento de determinadas raças de cães nórdicos que descendem diretamente do lobo; a existência de uma similaridade superior a 99,8% entre o DNA mitocondrial do cão e do lobo, enquanto que ao nível do cão e do coioite não ultrapassa os 96%; e a existência de mais de 45 subespécies de lobos que poderiam estar na origem da diversidade racial observada nos cães, permitiram reforçar a teoria do lobo como ancestral do cão (Parker et al., 2004; Vila et al., 1999; Wayne & Ostrander, 1999; Royal Canin, 2012).

Os mecanismos da evolução são gerais para todas as espécies, ainda que cada uma tenha seguido uma estratégia concreta na sua história (Vila et al., 1999). Sabe-se que, cada espécie, apresenta um conjunto de características únicas que a diferencia das outras, e que estão intimamente ligadas com o ambiente onde vivem, com o tipo de vida que têm e com as espécies com as quais mantêm alguma relação (Resomnia – Instituto Gallach, s/d). No entanto, apesar dos indivíduos de uma espécie terem muitas características comuns, que nos permitem reconhecê-la, há diferenças entre eles: não existem dois seres vivos iguais.

No ser humano, durante o processo de evolução, e como resultado da adaptação aos diferentes meios, foram-se formando os traços característicos das diferentes raças. As

características que levaram às primeiras classificações raciais no Homem, eram aquelas para as quais se verificavam as diferenças mais evidentes: a morfologia externa (por exemplo a cor da pele, do cabelo e dos olhos) (Figura 4). Todavia sabe-se que o fenómeno da variabilidade biológica não se expressa somente através de diferenças morfológicas, estendendo-se também a um número enorme de diferenças fisiológicas ou bioquímicas (Resomnia – Instituto Gallach, s/d). Hoje, parece lógica a existência de diferenças entre indivíduos pertencentes a raças distintas, mas essas diferenças também ocorrem no seio da própria raça. Se assim não fosse, não nos conseguiríamos distinguir uns dos outros (Lim, Miyamura, & Chen, 2015). Então e nos cães? Serão as raças de cães todas “iguais” ou existirão diferenças? Sabemos que como membros de uma espécie biológica, os cães possuem uma série de características comuns que os diferenciam de outras espécies, no entanto, em termos morfológicos existem diferenças óbvias (Vila et al., 1999). Ao contrário de outras espécies não domesticadas, que não evidenciam qualquer evolução há vários milhares de anos, a espécie canina foi-se adaptando aos vários climas, civilizações e zonas geográficas dando origem às 400 raças hoje existentes e homologadas pela Federação Cinológica Internacional (FCI), pertencentes ao género *Canis familiaris* (Royal Canin, 2012). Hoje, é visível a enorme diversidade racial existente nos cães (desde o *Chihuahua*, ao *Dogue Alemão*) (Figura 5). Esta diversidade parece ser superior à existente no Homem, pois apesar deste também possuir raças, que se diferenciam entre si em termos morfológicos, estas diferenças acabam por ser inferiores às identificadas nas várias raças de cães. Será a variabilidade intra-espécie, no cão, maior do que aquilo que se pensa? Será que em termos analíticos não existem diferenças tão grandes como aquelas que se verificam morfológicamente?

Figura 4 – Diversidade morfológica entre raças humanas (fonte: <https://acrediteounao.com/curiosidades-sobre-etnias-humanas/>)



Figura 5- Diversidade morfológica entre raças caninas (fonte: <http://www.jornaldopet.com/2014/04/9-coisas-que-voce-nao-sabia-sobre-os.html>)



É do conhecimento geral, a existência de doenças comuns às diferentes raças, porém também são conhecidas afeções que afetam determinadas raças ou grupos específicos de animais. Muitas destas doenças são até denominadas com o nome da raça em que ocorrem. A que se deverá isto? Existirá alguma relação entre o aparecimento destas doenças e a dispersão da árvore filogenética do cão, resultado da pressão de seleção exercida ao longo da sua evolução?

Em medicina veterinária, tal como na medicina humana, o diagnóstico tem como objetivo a identificação de uma eventual doença. Esta identificação, na maior parte dos casos, é obtida através de um conjunto de dados adquiridos através da história clínica, sinais clínicos, exame físico e de um conjunto de exames complementares (laboratoriais, imagiológicos, entre outros) que levam à confirmação de uma suspeita por parte do médico. A partir da identificação da afeção em causa é feito o planeamento do eventual tratamento e/ou previsão da sua evolução (prognóstico). Porém, nem sempre o diagnóstico de uma doença é assim tão simples. Um exemplo disto é o diagnóstico de hipotireoidismo, uma das doenças endócrinas caninas mais comuns, mas também uma das mais sobrevalorizadas. Esta dificuldade diagnóstica prende-se com a ausência de um único teste que confirme a doença, da presença de sinais clínicos poucos específicos e da existência de inúmeros fatores, que podem fazer variar os parâmetros laboratoriais obtidos e assim, contribuir para uma interpretação errada dos resultados. Aliado a isto, os valores obtidos dos doseamentos hormonais, e não só, são comparados com intervalos de referência (RIs) calculados para uma dada população e considerados normais se coincidirem com um determinado intervalo pré-estabelecido (Friedrichs et al., 2012; Walton, 2012). No entanto, sabe-se que existem vários fatores que

podem influenciar as concentrações hormonais e que não são tidos em conta aquando da obtenção destes intervalos não específicos. Terá isto alguma importância no sub ou sobrediagnóstico de determinadas afeções?

A raça tem sido apontada como um dos fatores que mais contribui para as variações nos intervalos laboratoriais de referência (Lavoué, Geffré, Braun, Peeters, & Trumel, 2013; Lim et al., 2015; Sharkey, Gjevre, Hegstad-Davies, Torres, & Muñoz-Zanzi, 2009). Um exemplo clássico disto são os animais pertencentes à família dos Galgos que têm naturalmente níveis fisiológicos mais baixos de hormonas tiroideias, podendo ser erradamente diagnosticados como tendo hipotireoidismo, se os resultados sanguíneos forem interpretados sem se ter em consideração as características específicas da raça (Uhríková et al., 2013; Zaldivar-López et al., 2011). Não seria então pertinente, para além de identificar os fatores que podem fazer variar os valores obtidos, adaptá-los à raça? Principalmente, naquelas raças com predisposição conhecida para determinada doença.

Para melhor compreender a implicação que determinados fatores podem ter no diagnóstico das doenças, nomeadamente a raça do animal e a falta de intervalos de referência específicos, tomaremos como exemplo o hipotireoidismo, uma das doenças endócrinas mais comuns, mas também uma das mais sobrevalorizadas na clínica de animais de companhia; e o Cão de Água Português, raça muito apreciada em Portugal e no mundo, com predisposição, apesar de pouco estudada, para esta doença (Animalia life, 2017; Portuguese Water Dog Clube of America [PWDCA], 2017). Será possível que estes animais, à semelhança de outras raças, possuam valores hormonais fisiológicos diferentes dos intervalos laboratoriais não específicos?

CAPÍTULO III – O CÃO DE ÁGUA PORTUGUÊS

O Cão de Água Português (Figura 6) é uma das 8 raças nacionais reconhecidas pela Federação Cinológica Internacional (FCI) e é classificado no grupo 8, ou seja, no grupo de “Cães Cobradores e Levantadores de Caça e Cães de Água” (Clube Português de Canicultura [CPC], 2008).

Figura 6 – Cão de Água Português (fotografia gentilmente cedida por Paulo Toste)

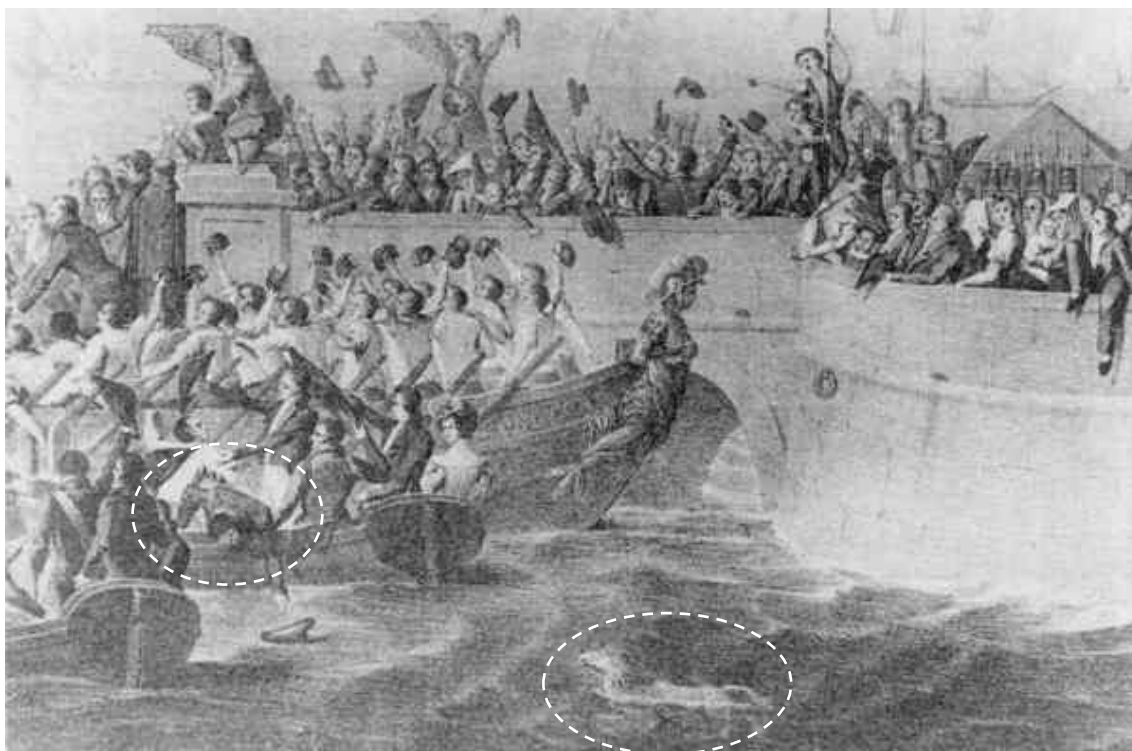


Existem várias teorias quanto à origem do Cão de Água Português, qualquer uma delas com poucas bases científicas, pelo que até hoje ainda não é conhecida a origem desta raça. Sabe-se, no entanto, que em toda a bacia mediterrânica, o cão de tipo mais ou menos idêntico ao atual, era usado pelos pescadores tendo originado as diferentes raças de Cão de Água hoje existentes (CPC, 2008; Vasconcelos, 1993).

A sua presença em Portugal remonta a épocas muito longínquas, com o primeiro registo da sua existência em 1297. O Cão de Água é considerado uma raça portuguesa (CPC, 2008), tendo sido, durante muitos séculos utilizado a bordo dos barcos de pesca, como auxiliar dos pescadores, devido à sua aptidão natatória e de mergulho (Figura 7).

Para além das tarefas piscatórias, também desempenhava funções de estafeta entre embarcações e delas para a praia ou vice-versa, transportando mensagens e objetos. Quando terminada a faina e descarregado o pescado, os pescadores abandonavam a embarcação, ficando o cão com a função de guarda (Vasconcelos, 1993).

Figura 7 – Imagem ilustrativa da participação do Cão de Água a bordo dos navios (fonte <http://www.pedradaanixa.com/historia.htm>)



Em épocas muito remotas, o Cão de Água Português existiu em todo o litoral português. Entretanto, devido à modernização contínua dos métodos de pesca, a raça encontra-se mais no Algarve, que é tido como a sua região de berço (CPC, 2008). No início do século XX, o seu número diminuiu gradualmente acabando por permanecer somente na costa algarvia (Vasconcelos, 1993). Foi Vasco Bensaúde, homem ligado ao mar, e grande apreciador de cães, que iniciou a recolha de exemplares representativos, no intuito de conseguir a fixação e o melhoramento da raça. O seu cão de nome “Leão”, adquirido no Algarve, serviu de modelo ao estalão da raça (Anexo 1) (Vasconcelos, 1993). Na década de 70 o *Guinness Book*, atribuiu a esta raça o título da raça canina mais rara do mundo. Em 1968, chegou aos Estados Unidos da América (EUA), a cadela “Renascença do Al-Garb” e no ano seguinte o macho “Anzol do Al-Garb”, fundadores da grande colónia de cães desta raça hoje existente nos EUA. O número de exemplares aumentou até atingir alguns milhares e fundou-se o *Portuguese Water Dog Club of America*. A raça foi oficialmente reconhecida pelo *American Kennel Club*, entidade dirigente de canicultura nos EUA. Entretanto, o estalão, talvez devido à pouca precisa tradução do original português, foi interpretado de forma pouco correta, de tal modo que os cães americanos são, atualmente, bastante diferentes dos existentes em Portugal (Vasconcelos, 1993).

Com o passar dos anos, de cães de trabalho passaram a animais de companhia. Em Portugal, na década de 60, o Doutor António Cabral (um dos presidentes do Clube Português de Canicultura), obteve dois exemplares da raça: “Silves” e “Galé” e posteriormente a “Ria”. Estes exemplares foram os pilares da recuperação da raça e constam do *pedigree* de praticamente, todos os exemplares hoje existentes em Portugal (Vasconcelos, 1993).

Nos últimos anos tem-se verificado uma expansão da raça, não só em Portugal como na Europa, existindo núcleos em quase todos os países europeus, que trabalham para a defesa, melhoramento e promoção da raça (Vasconcelos, 1993).

Em Portugal, no ano de 1994 foram registados, no CPC, 358 exemplares desta raça no *LOP* (Livro de Origem Português), número recorde de todos os tempos. Em 2015 foi considerada a 3ª raça portuguesa com maior número de registos (cerca de 287) (Clube Português de Canicultura [CPC], 2015) e em 2016 este número desceu ligeiramente para os 254 (Clube Português de Canicultura [CPC], 2016). Apesar da popularidade conseguida, sobretudo graças às qualidades como animal de companhia, a verdade é que o Cão de Água deixou de ter interesse no que diz respeito às suas aptidões naturais, principalmente devido à modernização da indústria piscatória (Vasconcelos, 1993).

Quanto às suas qualidades, o Cão de Água Português é caracterizado por possuir uma inteligência excecional e um temperamento extrovertido. É impetuoso, corajoso, sóbrio e resistente à fadiga. Possui uma excelente visão e olfato. A curiosidade, a jovialidade, o interesse pela aprendizagem conjugados com um temperamento afável, fazem dele o companheiro ideal, quer nadando e mergulhando ao lado do dono, quer confinado numa habitação urbana (CPC, 2008; Vasconcelos, 1993).

Do ponto de vista médico, é importante referir a predisposição do Cão de Água para determinadas doenças. A nível dermatológico é uma raça com predisposição para a displasia folicular assim como para a alopecia padrão, a nível oftalmológico é referida uma predisposição elevada para a atrofia progressiva generalizada da retina e a nível cardiovascular para a cardiomiopatia dilatada. A nível endócrino o Cão de Água Português parece ter uma elevada predisposição para o desenvolvimento de hipoadrenocorticism, no entanto outras doenças como o hipotireoidismo também se encontram descritas (Animalia life, 2017; Gough & Thomas, 2010; Oberbauer, Bell, Belanger, & Famula, 2006; PWDCA, 2017).

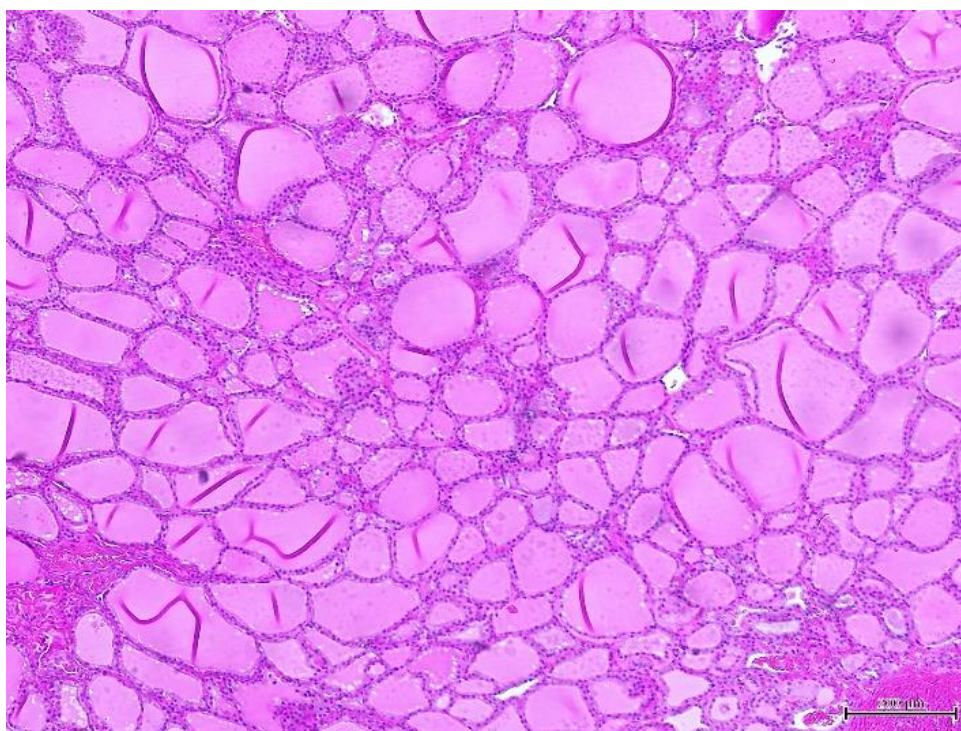
CAPÍTULO IV - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE HIPOTIROIDISMO CANINO

O hipotiroidismo é uma doença endócrina muito comum, podendo aparecer em qualquer tipo de cães. No entanto, tem-se verificado uma maior predisposição de determinadas raças para esta doença (Mooney, 2017). Nas raças portuguesas apenas se conhece, até à data, a prevalência de hipotiroidismo na raça Rafeiro do Alentejo (Tabanez, 2012).

1. A Glândula Tiroide

No cão, a glândula tiroide é dividida em dois lobos distintos localizados lateralmente à região proximal dos anéis traqueias (Mooney & Shield, 2012). Cada lobo é revestido por uma camada de epitélio folicular e é composto por inúmeros folículos microscópicos, unidade funcional da tiroide (Figura 8). O folículo contém, no seu lúmen, o coloide, substância gelatinosa onde é armazenada uma glicoproteína de alto peso molecular secretada pelas células foliculares, denominada tiroglobulina (Tg). A Tg possui iodotirosinas precursoras da síntese das hormonas tiroideias (Mooney, 2017). Os folículos são constituídos por uma única camada de células epiteliais cuboideias quando quiescentes, ou alongadas quando as células são estimuladas a produzir hormonas (Scott-Moncrieff, 2015).

Figura 8 - Imagem histológica de glândula tiroide normal em cão (fotografia gentilmente cedida pelo Laboratório de Anatomia Patológica da FMV)



A principal função da glândula tiroide é a produção de duas hormonas tiroideias ativas, a 3,5,3',5'-L-tetraiodotironina (Tiroxina, T_4) e a 3,5,3'-L-triiodotironina (Triiodotironina, T_3) (Mooney & Shield, 2012).

Outras células endócrinas importantes são as células parafoliculares ou células C, que se localizam fora dos folículos e que são responsáveis pela secreção de calcitonina, uma hormona importante na regulação do metabolismo do cálcio, inibindo a sua reabsorção óssea (Cunningham, 2002).

1.1 Síntese e secreção de hormonas tiroideias

A tiroperoxidase (TPO, *enzyme thyroid peroxidase*) está envolvida em várias etapas da síntese de hormonas tiroideias (Mooney, 2017). Para a síntese das hormonas da tiroide, duas moléculas são importantes: a tirosina e o iodo. A tirosina, parte integrante da Tg, é formada dentro da célula folicular e armazenada sob a forma de coloide. O iodo, após a ingestão, é convertido em iodeto no trato intestinal e posteriormente transportado para a tiroide, sendo captado, pelas células foliculares por transporte ativo através de um co transportador de sódio/iodo presente na membrana baso-lateral destas células. Já dentro da célula, o iodeto é oxidado, na presença de peróxido de hidrogénio, num intermediário reativo que, por sua vez, é incorporado nas estruturas anelares das moléculas de tirosina, reação esta catalisada pela TPO presente na membrana apical das células foliculares (Scott-Moncrieff, 2015).

Da iodação das tirosinas podem resultar dois produtos, a monoiodotirosina (MIT) se o anel tirosil receber uma molécula de iodeto, ou a diiodotirosina (DIT) se este anel receber duas moléculas de iodeto. A junção de duas moléculas de tirosina iodadas resulta na formação das hormonas tiroideias, ou seja, duas moléculas de DIT originam a tetraiodotironina (T_4) e uma molécula de MIT com uma de DIT dão origem à triiodotironina (T_3) (Cunningham, 2002). A união das duas moléculas de iodotirosina para formar as moléculas de iodotironina é catalisada pela TPO, no interior do coloide (Rijberk & Kooistra, 2010).

As hormonas tiroideias permanecem no lúmen acinar extracelular ligadas à tiroglobulina até serem libertadas na circulação (Cunningham, 2002). Para que estas hormonas sejam libertadas, a Tg, com os seus resíduos de T_4 , T_3 , MIT e DIT, tem de ser translocada, por endocitose, para dentro da célula folicular. As proteases dos lisossomas presentes no interior da célula folicular são responsáveis pela clivagem das pontes peptídicas entre os resíduos iodados e a Tg, com conseqüente libertação, no citoplasma, das tirosinas e das tironinas (Scott-Moncrieff, 2015). As iodotironinas atravessam livremente a membrana baso-lateral da célula e difundem-se nos capilares sanguíneos. A MIT e a DIT são desiodadas pela enzima iodotirosina-desalogenase dando origem ao iodo e à tirosina que são, deste modo, reciclados nas células foliculares para formar novas hormonas tiroideias em associação com a Tg (Scott-Moncrieff, 2010).

Das hormonas tiroideias, toda a T_4 em circulação é proveniente da tiroide, no entanto apenas 40% da T_3 é produzida por esta glândula. Os outros 60% resultam da desiodação da T_4 nos tecidos periféricos (pele, fígado, músculo-esquelético e rim) (Mooney & Shield, 2012). Esta desiodação ocorre por ação da enzima 5'-monodesiodinase, a qual remove o iodeto do anel fenólico externo da T_4 . Quando o iodeto é removido do anel interno da tiroxina é formada a T_3 reversa (rT_3), cujo efeito biológico é reduzido (Cunningham, 2002). Com exceção da T_3 nenhum dos derivados da tironina desiodada tem alguma atividade metabólica significativa (Cunningham, 2002).

1.2 Transporte, entrada nos tecidos, metabolização e ações das hormonas tiroideias

À semelhança das hormonas lipossolúveis, as hormonas da tiroide são transportadas no sangue por proteínas específicas. Cerca de 99% da T_4 e da T_3 encontram-se ligadas a proteínas plasmáticas, sendo esta ligação mais intensa para a T_4 (Scott-Moncrieff, 2010).

Existem uma série de proteínas encarregadas pelo transporte das hormonas tiroideias. Aproximadamente 60% da T_4 encontra-se ligada à globulina de ligação às hormonas tiroideias (TBG, *Thyroid hormone-binding globulin*), 17% à transtiretina (TBPA, *Thyroxine-binding pre-albumin*), 12% à albumina e 11% a outros tipos de lipoproteínas plasmáticas (Mooney, 2017). A proteína transportadora mais importante é a TBG uma vez que, possui elevada afinidade para a T_4 . No entanto, esta proteína existe em baixa concentração no plasma, contrariamente à albumina, o que torna esta última um dos transportadores mais importantes das hormonas da tiroide, apesar da sua menor afinidade para as tironinas (Cunningham, 2002).

Somente a pequena fração livre é metabolicamente ativa, ou seja, é esta que entra nas células dos tecidos alvo produzindo um efeito biológico e uma retroalimentação negativa no eixo hipotálamo-hipófise. A T_3 , comparativamente à tiroxina, entra na célula mais rapidamente, tem um início de ação mais rápido e é três a cinco vezes mais potente (Scott-Moncrieff, 2010). A fração ligada às proteínas plasmáticas funciona como um reservatório, mantendo um nível adequado de hormonas livres em circulação (Mooney & Shield, 2012).

As hormonas tiroideias afetam a maioria dos tecidos corporais, modificando a expressão de uma grande variedade de genes que codificam enzimas reguladoras, pela sua interação com recetores específicos presentes no núcleo das células, e influenciam múltiplos processos metabólicos, desde a regulação do fornecimento de oxigénio aos tecidos até ao controlo da síntese proteica (Mooney & Shield, 2012). Exercem grande influência no crescimento e desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC), possuem um efeito cronotrópico e inotrópico positivos, são necessárias na síntese e metabolismo do colesterol, são capazes de estimular a eritropoiese, entre outros (Mooney, 2017).

Após produzirem o seu efeito biológico, as hormonas da tiroide são metabolizadas, sendo a desiodação a principal forma de regulação do seu metabolismo (Cunningham, 2002; Scott-

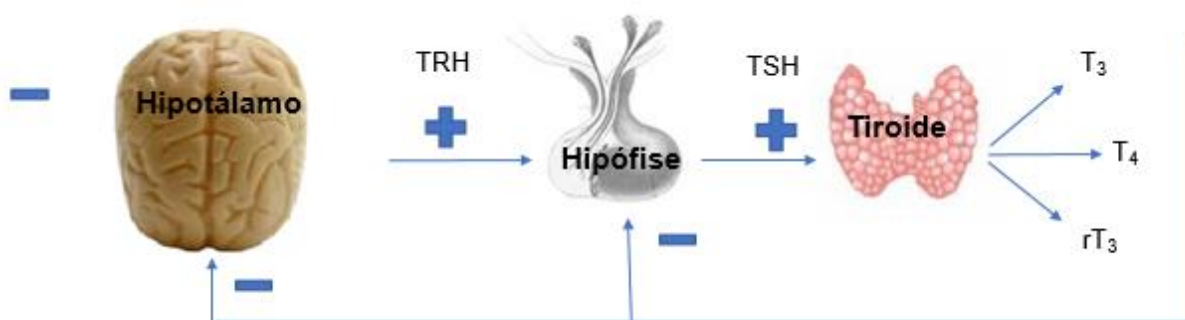
Moncrieff, 2010). Outra forma, menos comum, de inativação das hormonas da tiroide é a formação de conjugados (Cunningham, 2002). Tanto a T_4 como a T_3 são concentradas no fígado e eliminadas na bÍlis (Scott-Moncrieff, 2010). É a degradação das formas conjugadas nas fezes que origina a produção de moléculas de iodeto, que posteriormente são reabsorvidas como parte de um ciclo, denominado entero-hepático (Cunningham, 2002).

1.3 Regulação da função tiroideia

A síntese e excreção das hormonas da tiroide são controladas por um mecanismo de retroalimentação negativo (Figura 9). O hipotálamo secreta *thyrotropin-releasing hormone* (TRH) que estimula a produção e secreção de *thyroid-stimulating hormone* (TSH) pela hipófise anterior (*pars distalis*). Esta por sua vez promove a captação de iodo circulante e a síntese e libertação de hormonas tiroideias (Mooney, 2017).

O principal estímulo para a síntese e excreção de hormonas da tiroide é a variação da concentração de TSH em circulação, que por sua vez é controlada pelo eixo hipotálamo-hipófise-tiroide (Mooney & Shield, 2012). O excesso de hormonas em circulação (T_4 livre e T_3) produz uma retroalimentação negativa no hipotálamo e na hipófise com diminuição da síntese de TRH e de TSH, respetivamente, e consequentemente uma diminuição da produção e libertação das hormonas tiroideias (Mooney, 2017). Na hipófise, é primariamente a concentração de T_3 , por desiodação da T_4 , que desempenha um papel de retroalimentação negativo na secreção de TSH (Scott-Moncrieff, 2015).

Figura 9 – Esquematisação da regulação da função tiroideia



Esquema adaptado de Mooney (2017)

Legenda: - (retroalimentação negativa); + (retroalimentação positiva); TRH (*thyrotropin-releasing hormone*); TSH (*thyroid-stimulating hormone*); T_3 (triiodotironina); T_4 (tetraiodotironina); rT_3 (T_3 reversa)

Vários fatores levam à diminuição da secreção de TSH, nomeadamente a exposição ao calor e ao stress. Existem ainda hormonas que inibem a sua secreção incluindo a dopamina, a

somatostatina, a serotonina e os glucocorticoides, e outras que aumentam a sua secreção como é o caso da TRH, das prostaglandinas e dos agonistas alfa-adrenérgicos (Scott-Moncrieff, 2010).

A tireoide também possui mecanismos de autorregulação, que lhe permite regular a absorção de iodo e a síntese de hormonas tiroideias, independentemente dos níveis de TSH, como é exemplo a reação designada de *Wolff-Chaikoff block*. Segundo esta reação, na presença de excesso de iodo, ocorre uma diminuição da iodação da tiroglobulina por inibição da TPO com consequente diminuição da síntese das hormonas da tireoide. No caso de períodos de carência de iodo, verifica-se uma alteração da sensibilidade da tireoide à estimulação pela TSH (Scott-Moncrieff, 2015).

2. Etiopatogenia do Hipotireoidismo

O hipotireoidismo é a doença da tireoide mais comum e uma das doenças endócrinas mais prevalentes no cão (Mooney, 2017). Esta doença resulta de uma diminuição da produção de T_4 e de T_3 que pode ser devida a uma anomalia em qualquer região do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide (Mooney & Shield, 2012).

O hipotireoidismo pode ser classificado de primário, se a sua causa tiver origem na tireoide, ou central (secundário se for situada na hipófise, e terciário se for o hipotálamo a região afetada) (Mooney, 2017). Apenas uma pequena percentagem de animais desenvolve hipotireoidismo central.

Dependendo da idade em que a doença se estabelece, o hipotireoidismo canino pode ainda ser classificado como congénito ou adquirido (mais comum) (Mooney & Shield, 2012).

2.1 Hipotireoidismo Congénito

O hipotireoidismo congénito pode, igualmente, ser primário ou central, ocorrendo este último devido a uma deficiência em TSH ou TRH (Mooney, 2017). É um tipo de hipotireoidismo raro, no entanto, segundo Mooney (2017) a sua prevalência pode estar subvalorizada dado que os animais morrem ao nascimento ou em idade muito jovem e grande parte dos casos não são diagnosticados.

As causas mais comuns de hipotireoidismo congénito primário são a hipoplasia ou aplasia da tireoide, disgenesia tireoidiana ou disormonogénese (Scott-Moncrieff, 2015).

O défice de produção de TSH (hipotireoidismo secundário) foi reportado numa família de *Schnauzer Gigante* (Greco et al., 1991), num Boxer (Mooney & Anderson, 1993) e no Galgo Escocês (Robinson, Shaw, Stanley, & Wyburn, 1988). Há ainda o relato de hipotireoidismo central do tipo secundário num Cão de Água Português com duas semanas de idade (Gal, Raetzman, & Singh, 2012) e de nanismo pituitário no Pastor Alemão (Kooistra, Voorhout, Mol, & Rijnberk, 2000).

A maior parte dos casos de hipotireoidismo congênito não estão associados a bócio, no entanto quando existe uma falha na produção de TSH por parte da hipófise, este pode desenvolver-se, com evidências histológicas de hiperplasia folicular. Foram descritos casos de bócio associados a hipotireoidismo nas raças *Fox terrier* miniatura e em *Rat terrier* resultado de uma mutação autossômica recessiva com consequente deficiência na TPO e disormonogénese (Fyfe et al., 2003; Pettigrew et al., 2007). Diferentes mutações, mas com fenótipos semelhantes ao descrito, foram reportadas nas raças *Tenterfield Terrier*, Cão de Água Espanhol e *Papillon* (Dodgson, Day & Fyfe, 2012; Mooney, 2017).

O hipotireoidismo congênito terciário ainda não foi descrito no cão (Mooney 2017; Scott-Moncrieff, 2010).

2.2 Hipotireoidismo Adquirido Central

O hipotireoidismo adquirido central é raro (afeta menos de 5% dos animais) e consiste numa deficiência em TSH (hipotireoidismo secundário) ou TRH (hipotireoidismo terciário) (Mooney, 2017).

O tipo secundário caracteriza-se histologicamente por uma degeneração atrofica da tiroide, com folículos distendidos preenchidos com coloide e por um achatamento da camada de células epiteliais circundantes (Scott-Moncrieff, 2010). As causas mais comuns de hipotireoidismo secundário incluem neoplasias hipofisárias, hipofisectomias e, menos comumente, deficiências pós-traumáticas (Foley, Bracker, & Drellich, 2009; Mooney, 2017). Este tipo de hipotireoidismo pode ainda estar associado a um excesso de glucocorticoides, sendo neste caso reversível (Mooney, 2017).

O hipotireoidismo do tipo terciário foi apenas descrito num cão com neoplasia hipotalâmica (Shiel, Acke, Puggioni, Cassidy, & Mooney, 2007).

2.3 Hipotireoidismo Adquirido Primário

A doença primária é a forma mais comum, afetando mais de 95% dos animais com hipotireoidismo. Existem duas formas histológicas predominantes de hipotireoidismo primário: a tireoidite linfocítica e a atrofia idiopática da tiroide, ambas com igual prevalência (Mooney, 2017). Menos comumente, o hipotireoidismo pode dever-se a neoplasias primárias da tiroide ou metastáticas (Scott-Moncrieff, 2010). Os tipos de tumores mais comuns no cão são o carcinoma da tiroide e o carcinoma das células escamosas, no entanto a maioria destes tumores não são funcionais, não havendo estimulação ou produção excessiva de hormonas tiroideias (Scott-Moncrieff, 2015). Estão ainda descritas formas iatrogénicas de hipotireoidismo como as decorrentes de tratamentos com iodo radioativo (¹³¹Iodo), com fármacos com efeito anti-tiroideu como é o caso de doses altas de sulfonamidas, e ainda as tireoidectomias. A

tiroidectomia cirúrgica raramente causa hipotiroidismo permanente uma vez que, há quase sempre tecido tiroideu acessório que substitui as funções da tiroide (Scott-Moncrieff, 2010).

2.3.1 Tiroidite Linfocítica

A tiroidite linfocítica canina (CLT, *Canine lymphocytic thyroiditis*), também designada por tiroidite autoimune, caracteriza-se histologicamente pela infiltração multifocal ou difusa da glândula tiroide por linfócitos, macrófagos e plasmócitos juntamente com a formação de nódulos linfoides e destruição irreversível dos folículos (Mooney & Shield, 2012). Os folículos remanescentes são de pequenas dimensões e, com a evolução da doença, verifica-se uma destruição progressiva do parênquima com substituição do tecido glandular por tecido fibroso. Macroscopicamente, a tiroide pode apresentar um tamanho normal ou estar atrofiada (Scott-Moncrieff, 2010).

A CLT é considerada análoga da doença de Hashimoto's (HD, *Hashimoto's disease*) no Homem, partilhando estas duas entidades as mesmas bases imunológicas no desenvolvimento da doença e o mesmo padrão lesional (Gosselin, Capen, & Martin, 1978; Happ, 1995; Sundberg, 2012). Ambas apresentam as mesmas alterações patológicas, exceto o bócio que não é encontrado na CLT (Graham, Refsal, & Nachreiner, 2007).

A progressão da CLT é bastante lenta podendo demorar meses a anos e, os sinais clínicos tendem a surgir apenas quando aproximadamente 75% da glândula se encontra destruída (Mooney & Shield, 2012). O diagnóstico definitivo deste tipo de hipotiroidismo requer biópsia da tiroide, no entanto, visto tratar-se de um processo autoimune, grande parte dos animais, possuem em circulação anticorpos contra diferentes antigénios da tiroide (THAAs) tais como contra a Tg, a T₄, a T₃ e a TPO (Mooney, 2017). No cão estes autoanticorpos são dirigidos essencialmente contra a Tg (anticorpos anti-tiroglobulina ou TgAAs) (Nachreiner, Refsal, Graham, & Bowman, 2002) pelo que a sua medição tem elevada especificidade e sensibilidade diagnóstica. Aproximadamente 50% dos animais hipotiroideus apresentam TgAAs em circulação, o que corresponde à frequência de animais com CLT (Mooney, 2017; Scott-Moncrieff, 2010). Contrariamente aos cães, nos pacientes humanos com HD, os autoanticorpos mais frequentemente identificados são os anti-TPO (Zaletel & Gaberscek, 2011), pelo que, apesar da CLT ser histologicamente e clinicamente comparável à HD, o número de anticorpos anti-TPO no soro de cães com hipotiroidismo é bastante diferente do encontrado no Homem (Graham et al., 2007).

Existem 4 estadios funcionais e patológicos da CLT, como descrito na Tabela 1, sendo o seu reconhecimento importante do ponto de vista diagnóstico (Graham et al., 2007; Mooney, 2017).

Tabela 1 - Estádios da Tiroidite Linfocítica Canina

Estadio da CLT	Características Histológicas da Tiroide	Características Analíticas	Sinais Clínicos
Tiroidite silenciosa ou subclínica	Glândula tiroide maioritariamente normal, por vezes com ligeira infiltração linfocítica focal e muitas vezes periférica.	Hormonas tiroideias dentro dos intervalos de referência. Presença de TgAAs.	Ausência de sinais clínicos compatíveis com hipotiroidismo
Hipotiroidismo subclínico	Glândula tiroide com marcada infiltração celular.	Presença de TgAAs. Concentração de T ₃ e T ₄ ainda dentro dos valores normais; aumento da concentração de TSH.	
Hipotiroidismo clínico com deteção de Ac positiva	Maior parte do tecido funcional da tiroide encontra-se destruído (>75%) devido à inflamação, deixando de ser possível a produção adequada de hormonas tiroideias.	Diminuição da concentração de T ₄ , aumento da concentração de TSH e presença de TgAAs.	Sinais clínicos compatíveis com hipotiroidismo
Hipotiroidismo clínico com deteção de Ac negativa	Substituição do tecido glandular por tecido fibroso e adiposo, dando origem a uma tiroide de aspeto histológico não inflamatório e atrófico. A ausência do processo.	Diminuição da concentração de T ₄ e aumento (ou diminuição) da concentração de TSH. Ausência de TgAAs.	

Tabela adaptada de Mooney (2017) e Mooney & Shield (2012)

Legenda: Ac, anticorpos; TgAAs, anticorpos anti-tiroglobulina; TSH, tirotrofina; T₄, tiroxina; T₃ triiodotironina

A progressão através destes estádios é variável e nem sempre tem como resultado final uma situação de hipotiroidismo. Apenas cerca de 20% dos animais eutiroideus com deteção positiva para TgAAs (fase de tiroidite silenciosa) demonstram evidências de disfunção tiroideia

ao fim de um ano, e destes, apenas 5% alcançam o estadió de hipotiroidismo clínico. A maior parte dos animais permanecem com detecção de TgAAs positiva e assintomáticos, enquanto, apenas um pequeno número se torna TgAA negativo e sem evidências de disfunção tiroideia (Mooney, 2017).

Os mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da CLT continuam ainda por esclarecer, no entanto, atribui-se a esta doença autoimune uma componente multifatorial, para a qual contribuem fatores genéticos, ambientais e endógenos. Estes, conjuntamente, levam a um desequilíbrio da tolerância imunitária da tiroide capaz de despoletar o processo de destruição autoimune que se verifica na CLT (Burek & Talor, 2009).

Atualmente, tanto no Homem como no cão, tem sido demonstrada uma forte origem genética nas doenças autoimunes da tiroide (AITD, *autoimmune thyroid diseases*). A elevada consanguinidade que se verifica nos animais de raça pura, torna-os particularmente predispostos ao desenvolvimento de doenças hereditárias, incluindo doenças autoimunes (Karlsson & Lindblad-Toh, 2008; Sundberg, 2012). Tal como acontece para o Homem, no cão, alelos e haplótipos específicos do complexo maior de histocompatibilidade (MHC, *Major histocompatibility complex*) classe II designados DLA (*Dog leukocyte antigen*), têm sido fortemente associados à predisposição para o desenvolvimento de tiroidite linfocítica e, inclusivamente tem-se verificado um aumento da suscetibilidade à doença em algumas raças como é o caso do *Doberman Pinscher*, do Leão da Rodésia, do *Setter* Inglês e do *Schnauzer* Gigante (Kennedy et al., 2006a; Kennedy et al., 2006b; Mooney, 2017; Wilbe et al., 2010). No entanto, à semelhança do que se conhece na HD, podem estar por determinar outros genes que aumentem a suscetibilidade de desenvolvimento de CLT, para além do MHC classe II (Wilbe et al., 2010).

A presença de TgAAs em cães hipotiroideus varia consoante a raça, o que reflete diferentes taxas de progressão ou diferentes suscetibilidades para a doença, vindo tal fato também reforçar o caráter hereditário da doença (Mooney, 2017). As raças que se destacam pela frequência elevada de TgAAs incluem, mas não exclusivamente, o *Setter* Inglês, o Dálmata, o *Basenji*, o Leão da Rodésia, o Pastor Inglês, o Boxer, o *Bichon* Maltês, o *Chesapeake Bay Retriever*, o *Cocker Spaniel*, o *Shetland Sheepdog*, o *Golden Retriever* e o *Huskie* (Graham et al., 2007). O hipotiroidismo familiar é ainda reconhecido no *Dogue Alemão*, no *Beagle*, no *Borzois*, no *Schnauzer* Gigante e no *Hovawart* (Benjamin et al., 1996; Conaway, Padgett, & Nachreiner, 1985; Ferm et al., 2009; Mooney, 2017). Desta forma, tal como se verificam diferenças entre etnias no Homem, também nos cães ocorrem diferentes associações entre o MHC e as diferentes raças (Boucai, Hollowell, & Surks, 2011).

No Homem, alguns fatores ambientais têm sido associados ao desenvolvimento da doença de Hashimoto's, porém a influencia desses mesmos fatores no desenvolvimento de CLT não é ainda muito clara (Prummel, Strieder, & Wiersinga, 2004). A dieta parece ser o fator que

mais afeta os cães, sendo que, tanto o excesso como a deficiência em iodo podem causar alterações na síntese das hormonas da tiroide (Castillo et al., 2001; Johansson, 2011). Segundo um estudo de Castillo et al (2001), a administração de uma quantidade excessiva de iodo na dieta em cachorros da raça *Beagle* durante 45 a 90 dias provoca uma diminuição da concentração de IT_4 e aumento da concentração de TSH.

Protocolos de vacinação intensivos também têm sido associados ao desenvolvimento de tiroidite linfocítica (Scott-Moncrieff, Azcona-Olivera Glickman, Glickman, & HogenEsch, 2002), todavia, esta teoria não foi suportada pelos estudos subsequentes realizados pelos mesmos investigadores (Scott-Moncrieff, Glickman, Glickman, & HogenEsch, 2006). A estação do ano e a localização geográfica também são fatores que podem estar relacionados com uma maior prevalência de tiroidite linfocítica, apesar do seu mecanismo ser ainda desconhecido (Mooney, 2017).

2.3.2 Atrofia Idiopática da tiroide

A atrofia idiopática da tiroide, contrariamente à tiroidite linfocítica, é descrita como um processo degenerativo com substituição gradual do tecido glandular por tecido adiposo e conjuntivo, e cuja reação inflamatória é mínima (Mooney, 2017). A causa deste processo é ainda desconhecida, porém alguns autores acreditam que possa corresponder ao estadio final da tiroidite linfocítica, dado alguns animais com CLT se tornarem TgAAs negativos nesse estadio (Mooney, 2017).

3. Síndrome autoimune poliglandular

A insuficiência de vários órgãos endócrinos resulta na denominada síndrome autoimune poliglandular (APS, *Autoimmune Polyendocrine Syndromes*) (Ford, Nelson, Feldman, & Niwa, 1993). A APS está melhor documentada no Homem, sendo os tipos mais prevalentes o tipo 1 e o tipo 2 (ou síndrome de *Schmidt's*) (Betterle & Zanchetta, 2003; Neufeld, Maclaren, & Blizzard, 1981). Apesar da baixa incidência em cães, já foram reportados alguns casos de síndrome autoimune poliglandular (Ford et al., 1993; Hess, Kass & Van Winkle, 2003).

O mecanismo autoimune envolvido na patogénese da tiroidite linfocítica pode, simultaneamente, originar o aparecimento de outras doenças endócrinas imunomediadas como é exemplo o hipoadrenocorticism e a diabetes *mellitus* (Scott-Moncrieff, 2015; Scott-Moncrieff, 2010). Num estudo retrospectivo com 35 animais com poliendocrinopatias foram identificadas associações de hipoadrenocorticism e hipotiroidismo e de diabetes *mellitus* e hipotiroidismo em 22,9% e 28,6% dos cães, respetivamente (Blois, Dickie, Kruth, & Allen, 2011). No cão, a associação de hipotiroidismo e hipoadrenocorticism primários é idêntica à síndrome autoimune poliglandular tipo 2 verificada no Homem (Kooistra, Rijnberk, & van den Ingh, 1995).

A APS já foi descrita em várias raças incluindo o Cão de Água Português, o *Standard Poodle*, o *Old English Sheepdog*, o *Bearded Collie*, o *Nova Scotia Duck Tolling Retriever*, o *Terrier* preto da Rússia e o Leão da Rodésia (Dodds, n.d.; Pikula, Pikulova, Bandouchova, Hajkova, & Faldyna, 2007). No Hospital Veterinário Escolar da FMV foi detetado um caso de um Cão de Água Português com a síndrome autoimune poliglandular (presença simultânea de hipotireoidismo, hipoadrenocorticism, diabetes *mellitus* e megaesófago).

Está descrito que, somente 2,3% dos cães apresentam mais do que uma doença endócrina em simultâneo (Blois et al., 2011).

4. Epidemiologia do Hipotireoidismo

O hipotireoidismo é uma das doenças endócrinas mais comuns, especialmente em cães adultos, com uma prevalência de 0,2% a 0,8% (Dixon, Reid, & Mooney, 1999; Mooney, 2017). Esta prevalência pode ser bastante variável devido quer a uma inconsistência nos critérios de diagnóstico, quer a fatores como a popularidade de determinadas raças em detrimento de outras e a sua potencial variação genética (Mooney, 2011). Como exemplo disto, e segundo um estudo realizado na Suécia, verificou-se uma prevalência de hipotireoidismo canino de cerca de 0,07% (Egenvall, Bonnett, Olson, & Hedhammar, 2000).

A doença é mais comum em cães de média idade, com a idade média de diagnóstico aos 7 anos (podendo variar entre os 0,5 e os 15 anos), sendo incomum o diagnóstico em animais com menos de 2 anos. Raças com predisposição para a CLT tendem a aparecer com sinais de hipotireoidismo mais precocemente (Graham et al., 2007; Mooney, 2011).

O hipotireoidismo pode aparecer em qualquer raça, no entanto afeta tipicamente raças puras de médio a grande porte. A predisposição da doença em determinadas raças e a natureza familiar, vêm reforçar a componente hereditária do hipotireoidismo (Mooney, 2017).

Em relação ao género e ao estado reprodutivo existem várias opiniões. Por um lado, machos inteiros e fêmeas esterilizadas parecem ter maior risco de desenvolver a doença (Panciera, 1994b; Mooney, 2017), no entanto segundo Dixon et al (1999) não existe qualquer relação na incidência da doença com o género e/ou a esterilização.

5. Sinais clínicos de Hipotireoidismo

As hormonas da tiroide são necessárias para o metabolismo celular, pelo que a sua deficiente concentração em circulação influencia a função de quase todos os sistemas orgânicos (Scott-Moncrieff, 2015).

O hipotireoidismo é uma doença de início insidioso, não possuindo características patognomónicas; origina uma grande variedade de sinais clínicos podendo ser incluído em diversos diagnósticos diferenciais. Tal facto, leva a que muitas vezes o seu diagnóstico seja sobrevalorizado (Mooney, 2017, Scott-Moncrieff, 2010).

Os animais podem apresentar apenas um sinal clínico ou uma conjugação de vários sinais. Cerca de 70% dos sinais clínicos estão associados a uma diminuição do metabolismo basal em combinação com alterações dermatológicas. Menos comumente, podemos encontrar associadas ao hipotireoidismo, alterações cardiovasculares, neuromusculares, reprodutivas, oftalmológicas e/ou gastrointestinais (Tabela 2) (Mooney, 2017; Mooney & Shield, 2012). Tanto a idade do animal em que ocorreu a deficiência de hormonas da tiroide, como a raça, são fatores que afetam o aparecimento dos sinais clínicos (Scott-Moncrieff, 2015).

Tabela 2 - Sinais clínicos associados ao Hipotireoidismo

Sinais clínicos associados ao hipotireoidismo	
Metabólicos	Letargia, obesidade, intolerância ao exercício, intolerância ao frio.
Dermatológicos	Alopecia endócrina (simétrica ou assimétrica, áreas de fricção, “cauda de rato”), pelo fino e seco, hiperpigmentação, piodermite, seborreia, mixedema.
Outros menos frequentes	Reprodutivos (aumento do tempo de parto e da mortalidade peri-parto, infertilidade na fêmea, galactorreia e ginecomastia, etc); Neuromusculares (polineuropatias/miopatias, sinais vestibulares, paralisia do nervo facial/trigémio, coma mixedematoso, etc); Oftalmológicos (depósitos de lípidos na córnea, etc); Cardiovasculares (bradicardia, arritmias, etc); Gastrointestinais (diarreia, constipação).

Tabela adaptada de Scott-Moncrieff (2015)

5.1 Sinais Metabólicos

A maioria dos animais adultos com hipotireoidismo, apresenta sinais clínicos resultantes do efeito da diminuição generalizada da taxa metabólica no estado mental e na atividade do animal (Scott-Moncrieff, 2015). As alterações metabólicas estão presentes em cerca de 80% dos animais com hipotireoidismo e caracterizam-se principalmente por letargia (80%), ganho de peso não associado ao aumento do apetite (40 a 50%), intolerância ao exercício físico (25%), intolerância ao frio (10%), fraqueza generalizada e tremores (Mooney, 2017; Mooney & Shield, 2012).

O aumento de peso está descrito em 40 a 50% dos cães com hipotireoidismo, todavia é preciso ter em consideração que, atualmente, a sobrenutrição é bastante mais comum que o hipotireoidismo, sendo que apenas uma minoria dos animais com excesso de peso possui esta doença endócrina (Mooney, 2017).

Frequentemente, os sinais metabólicos são difíceis de identificar por parte dos tutores, uma vez que, têm uma natureza subtil e uma progressão lenta, no entanto, com a instituição da

terapêutica, os animais tendem a ter um aumento rápido da atividade devido ao aumento da taxa metabólica (Scott-Moncrieff, 2015).

5.2 Sinais Dermatológicos

Na pele, as hormonas da tiroide exercem inúmeras funções, possuindo um papel importante no crescimento do pelo e na resposta imunitária, humoral e celular (Mooney, 2017). São necessárias na fase inicial do ciclo de crescimento do pelo (anagénesse), influenciam a cicatrização de feridas e, nos seres humanos, têm ainda um efeito inibitório na acumulação de glicosaminoglicanos nos fibroblastos (Muller & Kirk's, 2013; Safer, Crawford, & Holick, 2004).

As alterações dermatológicas ocorrem em cerca de 80% dos animais com hipotiroidismo e tendem a ser menos subtis que as alterações metabólicas, o que as torna um dos principais motivos da ida ao veterinário por parte dos tutores (Dixon et al., 1999; Mooney, 2017). Apesar das apresentações clínicas serem muito variadas e dependerem da gravidade e cronicidade da doença, os sinais dermatológicos clássicos de hipotiroidismo incluem pele seca e descamativa, mudanças na qualidade e coloração do pelo, alopecia, seborreia seca ou oleosa e piodermite superficial (Figura 10) (Scott-Moncrieff, 2010).

Figura 10 – Lesões cutâneas em animal com hipotiroidismo (fotografia gentilmente cedida pela Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço)



Por vezes podem surgir lesões de hiperqueratose, hiperpigmentação nas zonas de alopecia e nas regiões inguinal e axilar, liquenificação nas zonas de alopecia e nas proeminências ósseas, formação de comedões, otites ceruminosas, má cicatrização de feridas, formação de hematomas e mixedema (Frank, 2006; Muller & Kirk's, 2013; Scott-Moncrieff, 2010).

A diminuição dos ácidos gordos e das prostaglandinas E2, assim como a atrofia das glândulas sebáceas em cães com hipotiroidismo, são responsáveis pelas alterações da queratinização e pelo aparecimento de hiperqueratose, descamação e seborreia seca com desenvolvimento de uma pelagem seca e sem brilho (Campbell & Davis, 1990; Muller & Kirk's, 2013; Scott-Moncrieff, 2015).

A persistência da fase telogénica durante longos períodos de tempo torna os pelos mais frágeis e baços. Estes são facilmente removidos resultando em alopecia, inicialmente em zonas de fricção como o pescoço (local da coleira), as extremidades laterais nos cães de raças grandes, a cauda, e em pontos de pressão como a anca e os cotovelos. A alopecia da cauda dá origem ao sinal típico de “cauda de rato” presente no hipotiroidismo, (Frank, 2006; Mooney & Shield, 2012). Além do enfraquecimento do pelo, existe um comprometimento da anagénesse quer após queda ou tosquia, contribuindo igualmente para a alopecia que se verifica nesta doença (Frank, 2006). Os animais afetados têm frequentemente uma alopecia endócrina não pruriginosa bilateral simétrica, com perda de pelo nas zonas do tronco e flanco, geralmente poupando a cabeça e extremidades (Mooney & Shield, 2012), embora se possa verificar uma alopecia na região dorsal nasal em *Retrievers* e *Beagles*, no pavilhão auricular de *Teckels*, ou na região lateral das extremidades distais em cães da raça Terra Nova (Scott-Moncrieff, 2015). Uma alopecia assimétrica focal ou multifocal também pode ocorrer e, nas raças grandes, está descrita a ocorrência de alopecia das extremidades devido à fricção, sem que o tronco se encontre afetado (Mooney & Shield, 2012).

Os sinais dermatológicos variam entre raças de cães devido a diferenças no ciclo do pelo e na morfologia folicular (Credille et al., 2001; Scott-Moncrieff, 2015). Um estudo em cães hipotiroideus da raça *Beagle* demonstrou que nestes animais, os pelos ficavam retidos nos folículos telogénicos meses a anos sem cair, o que explicava a não ocorrência de alopecia do tronco em algumas raças (Credille et al., 2001). Noutras raças ocorre uma perda predominante do sub-pelo, dando os restantes pelos primários um aspeto áspero à pelagem; nas raças árticas, a perda da pelagem primária dá ao pelo uma aparência de “pelagem de cachorro”. Raças como o *Setter* Irlandês retêm o pelo e desenvolvem uma pelagem densa consistente com hipertricrose (Scott-Moncrieff, 2015).

As hormonas da tiroide auxiliam na resposta imunitária humoral e celular. Consequentemente, animais com hipotiroidismo têm menor resistência ao aparecimento de infeções (Mooney & Shield, 2012; Muller & Kirk's, 2013). O aparecimento de infeções bacterianas recorrentes como a foliculite, a piodermite superficial, o impetigo e a furunculose, parecem ser secundárias

a uma alteração nas defesas cutâneas locais devido aos efeitos do hipotireoidismo na queratinização e na produção das glândulas sebáceas e ainda, devido a uma alteração da imunidade local (Scott-Moncrieff, 2010; Scott-Moncrieff, 2015). Infecções secundárias recorrentes, superficiais persistentes, profundas bacterianas e por *Malassezia* são descritas em 10 a 20% dos cães com hipotireoidismo (Mooney & Shield, 2012), sendo a maior parte das infecções bacterianas causadas por *Staphylococcus pseudointermedius* (Scott-Moncrieff, 2015). As manifestações cutâneas associadas ao hipotireoidismo são geralmente não pruriginosas, a menos que esteja concomitantemente presente uma infecção secundária bacteriana ou por *Malassezia*, uma infecção demodécica, alterações seborreicas (oleosas) ou doenças pruriginosas como a atopia ou a hipersensibilidade à picada de insetos (Scott-Moncrieff, 2015).

A acumulação de mucopolissacarídeos e de ácido hialurônico na pele, que ocorre devido a um desequilíbrio entre a sua produção e degradação, processos controlados pelas hormonas da tiroide, levam a uma chamada de água à derme, resultando no mixedema (ou mucinose cutânea). Esta condição é uma manifestação dermatológica rara do hipotireoidismo e consiste num espessamento da pele, sem sinal de *godet* (sem depressão), mais pronunciado na zona da face, com espessamento dos lábios, da pele da fronte e abatimento das pálpebras. Por este motivo, a aparência que a face do animal toma costuma designar-se por “*facies tragis*” (Mooney & Shield, 2012; Scott-Moncrieff, 2015). Uma complicação rara do mixedema é a formação da vesiculação mucinosa cutânea que origina pequenas protusões na pele (Miller & Buerger, 1990).

5.3 Sinais Cardiovasculares

No coração, as hormonas da tiroide exercem um efeito inotrópico e cronotrópico positivo direto. Além disso, estimulam a hipertrofia do miocárdio e indiretamente afetam o sistema cardiovascular por aumento da resposta à estimulação adrenérgica, afetando deste modo a função cardíaca (Mooney 2017; Mooney & Shield, 2012). Alterações como bradicardia, batimento apical fraco e arritmias podem ser encontradas no exame físico (Mooney & Shield, 2012; Scott-Moncrieff, 2015). Em cães hipotiroideos, embora rara, a fibrilhação atrial também tem sido descrita, parecendo esta ser parcial ou totalmente responsiva à terapêutica cardíaca e/ou suplementação com levotiroxina (Chow & French, 2014; Scott-Moncrieff, 2015).

No eletrocardiograma (ECG), o hipotireoidismo está associado a complexos QRS pequenos, ondas T invertidas, bradicardia sinusal e ocasionalmente bloqueios atrioventriculares de primeiro, ou mais raramente de segundo grau (Mooney, 2017; Panciera, 1994a; Stephan, Nolte, & Hoppen, 2003).

Para além das alterações da condução elétrica do coração, na ecocardiografia, é possível identificar algumas alterações na contratilidade e na função diastólica que incluem decréscimo

reversível da fração de encurtamento e ligeiro aumento do diâmetro sistólico e ventricular esquerdo (Panciera, 2001, 1994a). Estas alterações hemodinâmicas podem ser atribuídas aos efeitos diretos que o hipotireoidismo exerce no miocárdio, incluindo a diminuição da atividade da adenosina trifosfatase (ATPase), a diminuição da atividade da cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático, a redução da atividade dos canais de cálcio, a diminuição da atividade da sódio-potássio-ATPase e a diminuição dos recetores β -adrenérgicos do miocárdio (Scott-Moncrieff, 2015).

Há vários anos que tem sido questionada a associação entre o hipotireoidismo e a cardiomiopatia dilatada canina (CMD), pelo que vários estudos têm sido realizados, em raças específicas, com o intuito de se perceber se existe alguma relação entre estas duas afeções. Estudos têm documentado a presença concomitante das duas condições clínicas em animais da raça *Doberman pinscher* (Mooney, 2017). No entanto, segundo um estudo de Calvert et al (1998) a CMD é igualmente reportada em indivíduos eutiroídeos da raça *Doberman*, o que sugere a ausência de uma relação causal entre ambas as doenças. Segundo Beier et al (2015), apesar de não existir uma associação entre as duas apresentações clínicas, *Dobermans* com CMD têm maior risco de desenvolver hipotireoidismo, o que pode refletir uma predisposição independente para as duas condições ou um “percurso” comum nas suas patogénese.

Alterações no sistema circulatório, entre as quais se destacam o aumento na resistência vascular sistémica, a diminuição do volume de sangue circulante e a aterosclerose também contribuem para a diminuição do débito cardíaco, verificada em animais com hipotireoidismo (Scott-Moncrieff, 2015).

O hipotireoidismo é um fator de risco para o desenvolvimento de aterosclerose (Hess, Kass, & Van Winkle, 2003, Scott-Moncrieff, 2010), alteração que ocorre como consequência da hipercolesterolemia que se desenvolve no hipotireoidismo. A aterosclerose é uma complicação comum no ser humano, mas rara em cães, possivelmente devido a diferenças na composição e metabolismo das lipoproteínas nas duas espécies (Scott-Moncrieff, 2015). As consequências clínicas da aterosclerose também não são bem conhecidas, parecendo afetar quer o sistema cardiovascular, quer o sistema neurológico (Mooney, 2017).

Um derrame pericárdico num cão hipotiroídeu, constituído essencialmente por colesterol (Macgregor et al., 2004) e um tromboembolismo aórtico, foram outras alterações descritas em animais hipotiroídeos (Van Winkle, Liu, & Hackner, 1993).

Apesar do hipotireoidismo poder induzir todas estas alterações cardíacas, uma deficiência em hormonas da tiroide por si só, não leva a falência cardíaca. Além disso, desconhece-se se o hipotireoidismo causa efetivamente doença cardíaca ou, se este apenas complica a doença cardíaca pré-existente, potenciando a progressão de uma insuficiência cardíaca compensada para descompensada (Mooney & Shield, 2012). Sabe-se, porém, que as alterações cardíacas

são geralmente reversíveis após instituição da suplementação com T₄, embora possa levar meses até que a função cardiovascular seja restaurada (Scott-Moncrieff, 2015).

5.4 Sinais Neuromusculares

No cão, o hipotireoidismo tem sido associado a uma grande variedade de manifestações neurológicas como neuropatias periféricas, doenças do sistema nervoso central (SNC) e miopatias, embora existam poucas evidências do efeito direto desta doença na função neurológica (Jaggy, Oliver, Ferguson, Mahaffey, & Jun, 1994; Mooney, 2017).

A incidência dos sinais neurológicos é muito variável. Num estudo retrospectivo com 66 cães hipotiroídeos, cerca de 29% apresentavam alterações neurológicas, embora nem todas pudessem ser atribuídas somente ao hipotireoidismo (Panciera, 1994b). Num outro estudo retrospectivo com 50 cães com hipotireoidismo, apenas 3 demonstraram sinais neurológicos (Dixon et al., 1999; Scott-Moncrieff, 2007).

A fisiopatologia da maioria das anomalias neuromusculares centrais ou generalizadas é complexa e provavelmente multifatorial (Mooney & Shield, 2012). As manifestações neurológicas mais comumente relacionadas com o hipotireoidismo são as que envolvem o sistema nervoso periférico, no entanto, apesar de menos comuns, também estão descritas disfunções no SNC (Scott-Moncrieff, 2007).

O mecanismo que leva ao aparecimento das polineuropatias é ainda desconhecido, no entanto as duas hipóteses principais sugerem ou uma acumulação de mucopolissacarídeos no endoneuro e perineuro dos nervos periféricos e um comprometimento do transporte axonal devido à diminuição da atividade da ATPase mitocondrial ou, por outro lado, uma desmielinização provocada por alterações metabólicas nas células de *Schwann* (Giza, Nicpon, & Wrzosek, 2013; Panciera, 2001; Scott-Moncrieff, 2007).

Os mecanismos que potenciam os sinais ao nível do SNC podem ser explicados pela presença de doença aterosclerótica, alteração no metabolismo neuronal e alterações na excitabilidade neuronal atribuídas a uma deficiente libertação e reabsorção de neurotransmissores. O deficiente transporte de hormonas tiroídeas a nível cerebral também tem sido apontado como uma hipótese na origem destes sinais no SNC (Higgins, Rossmeisl Jr., & Panciera, 2006; Scott-Moncrieff, 2007).

A neuropatia periférica é a manifestação neurológica melhor descrita no hipotireoidismo. Os sinais mais frequentes são a intolerância ao exercício físico, a fraqueza generalizada, a ataxia, a hiporeflexia e as deficiências propriocetivas (mais nos membros posteriores que nos anteriores), a tetraparésia ou paralisia. Os animais podem ainda demonstrar sinais de depressão, anorexia e dificuldades respiratórias (Jaggy et al., 1994; Scott-Moncrieff, 2007). Os sinais clínicos têm uma progressão lenta, de duas a oito semanas, podendo começar com ligeiras alterações da marcha evoluindo depois para paresia ou tetraparésia. A polineuropatia

tende a ser reversível com uma correta suplementação com T₄. As melhorias são visíveis ao fim de alguns dias, mas a resolução completa dos sinais pode levar 1 a 2 meses (Scott-Moncrieff, 2007).

A acalásia cricofaríngea foi documentada num cão com hipotireoidismo, suspeitando-se que esta manifestação pudesse fazer parte de uma polineuropatia, tendo os sinais clínicos desaparecido após suplementação com L-tiroxina (Bruchim, Kushnir, & Shamir, 2005).

As neuropatias localizadas podem dar origem a alterações em múltiplos nervos cranianos (facial, trigêmio e vestibulo-coclear), com ou sem alterações na postura e nos movimentos corporais (Panciera, 2001). Não se sabe bem qual a origem destas alterações, todavia a hipótese mais aceite é a de que possuem a mesma patogenia das neuropatias periféricas ou por outro lado podem ser o resultado do aprovisionamento do nervo em depósitos mixedematosos. Segundo um estudo de Higgins et al (2006), estão descritos tanto sinais de síndrome vestibular periféricos como centrais em cães com hipotireoidismo.

Na literatura, está documentada a presença de megaesófago, paralisia da laringe e *miastenia gravis* em conjugação com o hipotireoidismo. Contudo, ainda não se conseguiu estabelecer uma relação causal entre estas entidades. A resolução do megaesófago ou da paralisia da laringe após suplementação hormonal é controversa, existindo apenas uma pequena percentagem de animais tratados que melhora (Fracassi & Tamborini, 2011; Jaggy et al., 1994). Além disso, segundo um estudo retrospectivo em cães com megaesófago adquirido, chegou-se à conclusão que o hipotireoidismo não é um fator de risco para o desenvolvimento de megaesófago (Gaynor, Shofer, & Washabau, 1997). Também a *miastenia gravis* não parece ter uma associação direta com o hipotireoidismo, aparecendo como uma doença imuno-mediada concomitante a este (Levine, Bergman, Coates, & Shelton, 2005; Mooney, 2017).

A aterosclerose do SNC foi descrita num cão e suspeitada no Labrador *Retriever* com doença neurológica e hiperlipidémia grave (Blois, Poma, Stalker, & Allen, 2008; Vitale & Olby, 2007). O coma mixedematoso, embora bastante raro, é a apresentação mais grave e aguda do hipotireoidismo, apresentando-se os animais em depressão mental. Estes apresentam um estado de estupor ou comatoso, com hipotermia, bradicardia, hipotensão e hipoventilação (Atkinson & Aubert, 2004; Henik & Dixon, 2000; Mooney & Shield, 2012).

Convulsões, desorientação e *circling* podem ocorrer em cães hipotiroídeos, porém não se conhece a relação causal entre estas condições. O hipotireoidismo foi diagnosticado em apenas 3% dos cães com convulsões de origem metabólica ou tóxica (Brauer, Jambroszyk, & Tipold, 2011). A epilepsia idiopática pode provocar alterações no perfil da tiroide compatíveis com a síndrome do eutiroídeo doente, podendo os animais epiléticos ser erradamente diagnosticados com hipotireoidismo. Além disso, o diagnóstico de hipotireoidismo torna-se mais difícil após o início da terapêutica com anticonvulsivos, fármacos que alteram

as concentrações séricas das hormonas da tiroide (Klopmann, Boettcher, Rothermund, Rohn, & Tipold, 2006).

Os sinais clínicos devidos a neuropatias podem ser difíceis de distinguir dos resultantes de miopatias (Mooney, 2017). A miopatia associada ao hipotiroidismo é normalmente subclínica e é caracterizada por alterações metabólicas da energia muscular e pela depleção de carnitina do aparelho músculo-esquelético. Estas alterações podem contribuir para o aparecimento de sinais clínicos pouco específicos como a letargia e a intolerância ao exercício físico (Rossmeisl, Duncan, Inzana, Panciera, & Shelton, 2009). Num estudo, verificou-se que nas situações em que o hipotiroidismo experimental não causava neuropatia, haviam evidências subclínicas, bioquímicas, eletrofisiológicas e morfológicas de miopatia (Rossmeisl, 2010).

Alterações comportamentais, nomeadamente agressividade, têm sido apontadas como consequência do hipotiroidismo, no entanto não existem ainda estudos que o comprovem. Além disso, verificou-se que a agressividade estava presente meses antes do diagnóstico de hipotiroidismo e que não havia melhorias após suplementação com levotiroxina (Carter, Scott-Moncrieff, Luescher, & Moore, 2009; Mooney & Shield, 2012; Radosta, Shofer, & Reisner, 2012).

5.5 Sinais Oftalmológicos

Os sinais oculares são raros e parecem ocorrer secundariamente à hiperlipidémia que se verifica no hipotiroidismo. Um exemplo disto é a lipidose da córnea, descrita em 5 cães da raça Pastor Alemão (Crispin & Barnett, 1978). Outras alterações igualmente associadas ao hipotiroidismo, mas cuja relação causal ainda não está provada, incluem a úlcera da córnea, a uveíte, o derrame lipídico no humor aquoso, o glaucoma secundário, a lipemia *retinalis*, o descolamento da retina e a queratoconjuntivite seca (Scott-Moncrieff, 2010; Scott-Moncrieff, 2015).

A associação entre o hipotiroidismo e a queratoconjuntivite seca é controversa. Segundo um estudo existe diminuição da produção lacrimal em cães com hipotiroidismo (Williams, Pierce, Mellor, & Heath, 2007) no entanto, de acordo com outro estudo, não parecem existir alterações relevantes no teste de *Schirmer*, na pressão intraocular, na biomicroscopia nem no exame oftalmológico indireto, durante pelo menos as 17 semanas do estudo, nem se encontraram alterações significativas após necropsia, nos animais com hipotiroidismo experimental (Miller & Panciera, 1994). Todavia, é possível que a duração do hipotiroidismo, neste estudo, tenha sido insuficiente para o desenvolvimento das alterações oculares. Ainda segundo Mooney (2011), a coexistência das duas afeções clínicas pode refletir uma doença imunomediada poliglandular, que afeta tanto o sistema endócrino como o olho.

5.6 Sinais Reprodutivos

Várias alterações ao nível do sistema reprodutivo da cadela têm sido atribuídas ao hipotireoidismo, nomeadamente infertilidade, aumento do intervalo inter-éstrico, estros silenciosos, anestros persistentes, galactorreia, abortos espontâneos, reduzido número de crias e/ou crias pequenas e fracas, presença de nados mortos e inércia uterina. No entanto, apesar destas alterações serem descritas ao nível do aparelho reprodutor da fêmea, a sua relação causal é fraca (Mooney & Shield, 2012; Scott-Moncrieff, 2010).

Um estudo investigou a presença de alterações reprodutivas em cadelas com hipotireoidismo induzido num período de tempo curto (19 semanas) e num período mais longo (pelo menos 40 semanas), tendo verificado para o primeiro caso partos prolongados e diminuição da sobrevivência dos cachorros no período peri-parto, sem alteração no intervalo inter-éstrico, na fertilidade ou na duração da gestação (Mooney, 2017; Panciera, Purswell, & Kolster, 2007). No segundo caso, verificou-se uma diminuição da fertilidade, um aumento da mortalidade peri-parto e uma diminuição do tamanho dos cachorros, sem alterações no intervalo inter-éstrico, na duração da gestação nem no comportamento reprodutivo (Mooney, 2017; Panciera, Purswell, Kolster, Werre, & Trout, 2012).

A galactorreia é pouco comum, mas pode estar associada ao hipotireoidismo (Cortese, Oliva, Verstegen, Ciaramella, & Persechino, 1997). Foi demonstrado que existe desenvolvimento de hiperprolactinemia e consequentemente de galactorreia em cadelas inteiras com hipotireoidismo primário espontâneo (Diaz-Espiñeira, Mol, Rijnberk, & Kooistra, 2009; Mooney, 2017). Tal poderá dever-se à falta de retroalimentação negativa das hormonas da tiroide sobre a TRH com aumento da sua produção pelo hipotálamo e consequentemente de prolactina pela hipófise, principalmente em fêmeas inteiras durante a fase lútea do ciclo éstrico (Mooney & Shield, 2012).

As alterações reprodutivas atribuídas ao hipotireoidismo nos machos são: diminuição da libido, atrofia testicular, hipoespermia e azoospermia (Scott-Moncrieff, 2010). Num estudo realizado numa colónia de *Beagles*, verificou-se uma relação entre a presença de tiroidite linfocítica e de orquite, apresentando os animais, diminuição do tamanho dos testículos, subfertilidade ou esterilidade (Fritz, Lombard, Tyler, & Norris, 1976). No entanto, de acordo com um outro estudo, em 6 cães machos da mesma raça com hipotireoidismo induzido experimentalmente, não foi encontrada qualquer associação entre o hipotireoidismo e os índices reprodutivos (contagem e motilidade/morfologia dos espermatozoides, diâmetro escrotal e libido) durante pelo menos os 2 anos do estudo (Johnson, Olivier, Nachreiner, & Mullaney, 1999). Ainda noutro estudo, contemplando machos de 5 raças diferentes (*Dogue Alemão*, *Dogue de Bordéus*, *Mastiff Inglês*, *Leão da Rodésia* e *Golden Retriever*), não foi descrita qualquer associação entre o hipotireoidismo e a fertilidade (Segalini *et al.*, 2009), pelo que a deficiência de hormonas tiroideas parece ser uma causa bastante incomum de infertilidade no macho.

5.7 Outros sinais clínicos

Muito raramente os animais hipotiroídeos apresentam alterações gastrointestinais como obstipação, vômito e diarreia (Mooney, 2017). Foi reportada a associação entre o hipotiroidismo e um sobrecrecimento bacteriano ao nível do intestino delgado, secundário à diminuição da motilidade intestinal com consequente diarreia. No entanto, parece mais provável, que estes animais apresentem esta sintomatologia devido à síndrome do eutiroídeo doente, do que propriamente devido ao hipotiroidismo (Panciera, 2001; Scott-Moncrieff, 2015). A obstipação parece estar relacionada com a diminuição do peristaltismo intestinal, por diminuição da contratilidade do músculo liso (Panciera, 2001; Scott-Moncrieff, 2015).

No Homem, o hipotiroidismo pode levar a alterações graves na coagulação, devido à diminuição da concentração plasmática dos fatores VIII e IX da coagulação e do fator antigénio *von Willebrand* (vWf/Ag), à redução da adesão plaquetária e ainda devido a um aumento da fragilidade capilar, por diminuição da síntese proteica que ocorre no hipotiroidismo (Scott-Moncrieff, 2015). Em cães hipotiroídeos, similarmente ao que ocorre no Homem, também foi reportada uma diminuição do vWf/Ag (Avgeris, Lothrop, & McDonald, 1990). Porém, estudos subsequentes não conseguiram demonstrar uma relação entre a atividade deste fator e o perfil das hormonas da tiroide, sendo pouco provável que o hipotiroidismo induza a doença de *von Willebrand* e que produza efeitos deletérios na hemostase primária (Panciera & Johnson, 1996; Scott-Moncrieff, 2015). Além disso, parece não existir um aumento da concentração sanguínea de vWf/Ag aquando da suplementação com T₄ em cães hipotiroídeos ou eutiroídeos com a doença de *von Willebrand* (Heseltine et al., 2005; Panciera & Johnson, 1996).

6. Diagnóstico de Hipotiroidismo

O diagnóstico de hipotiroidismo nem sempre é fácil pois os sinais clínicos da doença são vagos e inespecíficos e além disso, existem inúmeros fatores que podem fazer variar os resultados das concentrações hormonais da tiroide, e com isto levar à sobrevalorização da doença (Daminet, 2010). Além disso, e segundo Dixon (2004), devemos ter em conta que o diagnóstico de hipotiroidismo é um diagnóstico clínico, não nos devendo basear exclusivamente nos testes laboratoriais como meio de diagnóstico, pois nenhum dos testes disponíveis para o seu diagnóstico é 100% eficaz, variando de muito sensíveis e pouco específicos, a pouco sensíveis e muito específicos e, além do mais, a presença de doenças não tiroídeas e/ou a utilização de alguns fármacos influenciam a função da tiroide e o resultado da grande maioria dos testes endócrinos. Posto isto, o diagnóstico de hipotiroidismo deve basear-se numa avaliação detalhada da história pregressa do animal e dos sinais clínicos e laboratoriais, antes de o submeter a testes específicos.

Apesar da existência de vários testes específicos para o diagnóstico de hipotiroidismo, o “*gold standard*”, e aquele que mais se utiliza na prática clínica, é o doseamento da concentração sérica de tT_4 e de TSH e, eventualmente, como 2ª linha de diagnóstico, a medição da concentração de IT_4 por diálise de equilíbrio e dos anticorpos anti tiroideus (nomeadamente dos TgAAs).

6.1 Alterações clínico patológicas

O hipotiroidismo deve ser considerado como uma doença multisistémica. Em todos os casos de suspeita da doença, deve ser realizado um painel de análises gerais que inclua pelo menos um hemograma, análises bioquímicas e uma urianálise (Ferguson, 2007). Em animais com hipotiroidismo a avaliação da urina geralmente é normal, exceto se o animal apresentar tiroidite linfocítica com glomerulonefrite por deposição de imunocomplexos, que pode resultar em proteinúria (Scott-Moncrieff, 2015).

Várias alterações hematológicas e bioquímicas podem ser identificadas em animais com hipotiroidismo. As alterações mais frequentes são: a anemia, a hipercolesterolemia, a hipertrigliceridemia, o aumento da atividade da creatinina quinase (CK) e da concentração de fructosamina (Dixon *et al.*, 1999; Mooney, 2017). Apesar de nenhuma destas alterações ser específica do hipotiroidismo, a sua presença, para além de reforçar o diagnóstico de hipotiroidismo, é extremamente importante para se conseguir descartar outras doenças não tiroideias (Mooney, 2017; Scott-Moncrieff, 2015).

6.1.1 Hemograma

Dos animais hipotiroideus, aproximadamente 32 a 44% apresentam uma anemia normocítica e normocrómica, não regenerativa, geralmente não detetada ao exame físico. A gravidade da anemia reflete, por norma, a cronicidade do hipotiroidismo (Mooney & Shield, 2012). A anemia que se verifica no hipotiroidismo parece ser o resultado de uma diminuição da produção de eritropoietina (EPO) e da ausência de um efeito direto das hormonas da tiroide na medula óssea (Mooney, 2011), porém o tempo de vida dos eritrócitos não se encontra alterado (Scott-Moncrieff, 2015). O hematócrito (raramente superior a 25%) e a hemoglobina encontram-se diminuídos (Dixon *et al.*, 1999; Mooney, 2017; Scott-Moncrieff, 2015). Em cães com hipotiroidismo, mas não anémicos, o número de eritrócitos costuma situar-se no limite mínimo do intervalo de referência (Mooney, 2017).

Os leptócitos são células que se desenvolvem por deposição de colesterol na membrana dos eritrócitos como consequência da hipercolesterolemia que se verifica em animais hipotiroideus, e podem ser observados quando se avalia a morfologia dos glóbulos vermelhos (Scott-Moncrieff, 2015).

O hipotireoidismo tem sido associado a um aumento do número de plaquetas (trombocitose) e a uma diminuição do seu tamanho, resultado de um aumento da trombocitopoiese em detrimento da diminuição da eritropoiese (Sullivan et al., 1993). A leucocitose é extremamente rara em animais com hipotireoidismo, mas quando presente pode indicar a existência de uma infecção concomitante (exemplo piodermite) (Scott-Moncrieff, 2015).

6.1.2 Perfil Bioquímico

As hormonas da tiroide, estimulam o metabolismo dos lípidos, incluindo a sua síntese, mobilização e degradação. A deficiência em hormonas tiroideias é responsável pela diminuição da síntese e degradação dos lípidos, com sua consequente acumulação no plasma sanguíneo e aumento do risco de desenvolvimento de aterosclerose (Scott-Moncrieff, 2015). A principal alteração bioquímica descrita em cães com hipotireoidismo é a hipercolesterolemia, afetando cerca de 75% dos animais. Esta alteração é frequentemente acompanhada de hipertrigliceridemia (Mooney, 2017).

A hiperlipidemia está também presente noutras doenças endócrinas como é o caso da diabetes *mellitus* e do hiperadrenocorticism, no entanto a magnitude do aumento do colesterol é muito maior no hipotireoidismo do que nessas doenças (Barrie, Watson, Stear, & Nash, 1993; Hess et al., 2003; Mooney & Shield, 2012). Portanto, embora a hipercolesterolemia e a hipertrigliceridemia não sejam alterações patognomónicas do hipotireoidismo, valores muito aumentados de colesterol com sinais clínicos compatíveis com hipotireoidismo podem suportar a presença da doença (Scott-Moncrieff, 2015).

No hipotireoidismo é também observado um aumento da atividade da creatinina quinase (CK) em 18 a 35% dos cães, no entanto este aumento geralmente não excede duas vezes o limite superior do intervalo de referência. O aumento da CK pode resultar de uma diminuição do seu metabolismo ou da sua excreção, porém, segundo alguns autores pode também estar relacionado com a presença de miopatia subclínica. Neste caso, ocorre com um aumento simultâneo da atividade da aspartato aminotransferase (AST) e da lactato desidrogenase (LDH) (Mooney, 2017; Mooney & Shield, 2012; Rossmeisl et al, 2009).

Em pacientes hipotiroideos, as concentrações de frutamina podem estar aumentadas em 38 a 82% dos casos. Isto, possivelmente, ocorre devido a uma diminuição da síntese proteica, independentemente da concentração de glucose sanguínea (Dixon et al., 1999; Reusch, Gerber, & Boretti, 2002). Excluindo os animais diabéticos, o doseamento da frutamina tem uma elevada especificidade no diagnóstico de hipotireoidismo, no entanto, estes valores nunca são tão elevados como aqueles que se verificam para a diabetes *mellitus* (Mooney & Shield, 2012).

Está ainda descrito um ligeiro aumento da atividade das enzimas hepáticas (em 30% dos casos), principalmente da fosfatase alcalina (FAS) e da gamaglutamiltransferase (GGT) em

cães com hipotireoidismo, devido a uma deposição lipídica hepática associada à doença (Mooney, 2017). Estas alterações têm uma utilidade limitada no diagnóstico de hipotireoidismo (Mooney & Shield, 2012).

6.2 Testes endócrinos

A função da tireoide é avaliada através da medição das concentrações das hormonas tireoideas no soro ou por avaliação da resposta da glândula tireoide à estimulação (Scott-Moncrieff, 2015). Os testes disponíveis para avaliação das concentrações das hormonas tireoideas e hipofisária (TSH) incluem: a medição da concentração sérica de tiroxina total (tT_4), de tiroxina livre (lT_4), de triiodotironina total (tT_3) e de tirotrofina canina (cTSH). Estão ainda disponíveis, testes para a deteção da presença de TgAAs, de anticorpos anti- T_4 (T_4AA) e de anticorpos anti- T_3 (T_3AA). Os testes que medem a concentração de T_3 livre e de T_3 reversa não são usados no diagnóstico da doença (Mooney, 2017).

Os testes dinâmicos de função tireoidea incluem os testes de estimulação com TSH ou TRH, porém, devido à sua pouca disponibilidade e ao desenvolvimento dos testes endócrinos, anteriormente referidos, reduziu-se a necessidade do seu uso na prática clínica (Mooney & Shield, 2012).

As hormonas da tireoide mantêm-se estáveis no soro a 37°C durante 5 dias, armazenadas em recipientes de plástico. A amostra mantém a sua estabilidade quando congelada, e até mesmo quando sujeita a congelamentos e descongelamentos sucessivos (Scott-Moncrieff, 2010).

6.2.1 Concentração sérica de tiroxina total (tT_4)

A medição da concentração basal de tT_4 mede tanto as hormonas de T_4 ligadas às proteínas plasmáticas, como aquelas que circulam livres no sangue (Scott-Moncrieff, 2015). A determinação da concentração de tT_4 é um bom método de diagnóstico em cães com suspeita de hipotireoidismo, uma vez que, a maior parte destes animais possuem concentrações de tT_4 diminuídas (Mooney, 2017).

Este teste possui uma elevada sensibilidade (>95%), sendo considerado de 1ª linha no diagnóstico da doença, porém, a sua especificidade é baixa (cerca de 75%) (Mooney, 2017; Scott-Moncrieff, 2015). O fato da especificidade ser baixa pode dever-se a uma variação normal individual, à presença de doenças não tireoideas (NTI) ou à administração de certos fármacos que levam à supressão da glândula tireoide e consequentemente, a uma diminuição da concentração de tT_4 . Outros fatores como a idade, a raça, a estação do ano e a altura do dia podem alterar os valores da concentração basal de tT_4 (Mooney & Shield, 2012; Scott-Moncrieff, 2010). Existem diferenças na concentração de tT_4 entre as diferentes raças, sendo o exemplo mais clássico os cães pertencentes à família dos galgos, em que animais saudáveis possuem valores fisiologicamente inferiores aos intervalos de referência (Zaldívar-López et

al., 2011). No que toca à idade, a concentração de tT_4 tende a diminuir progressivamente ao longo dos anos, podendo mesmo estar abaixo do intervalo de referência em cães idosos (Reimers, Lawler, Sutaria, Correa, & Erb, 1990). Contrariamente, animais com menos de 3 meses possuem valores de T_4 duas a cinco vezes superiores aos valores nos adultos (Mooney, 2017). Estão também descritas variações circadianas em animais saudáveis, ocorrendo flutuações na concentração de tT_4 , de acordo com o período do dia (Hoh & Oh, 2006; Mooney & Shield, 2012).

A concentração de tT_4 não parece diferir entre géneros, no entanto, raças médias e grandes têm geralmente valores fisiológicos de tT_4 mais baixos, comparativamente a raças mais pequenas (Graham et al., 2007; Reimers et al., 1990). Por outro lado, cães obesos têm concentrações significativamente superiores de tT_4 que cães não obesos da mesma raça (Mooney & Shield, 2012).

Geralmente valores de tT_4 dentro do intervalo de referência excluem a doença, a menos que o animal seja hipotiroideu e possua autoanticorpos em circulação (THAA, anticorpos anti hormonas tiroideias), que interfiram com as medições de tT_4 na maioria dos métodos comerciais disponíveis (Mooney, 2017). Estes autoanticorpos são geralmente dirigidos contra a tiroglobulina (TgAAs), uma vez que as moléculas de T_4 e de T_3 não são suficientemente grandes para iniciarem a produção de anticorpos. No entanto alguns destes autoanticorpos podem também ser dirigidos contra a T_4 (T_4 AA) ou contra a T_3 (T_3 AA) (Graham et al., 2007; Nachreiner et al., 2002). Anticorpos anti- T_4 são raros e estão presentes em menos de 2% dos animais suspeitos de hipotiroidismo, no entanto este número aumenta para 14% em cães com hipotiroidismo e com presença de TgAAs (Graham et al., 2007; Mooney, 2017). Nachreiner et al (2002), verificaram uma percentagem de 5,67% de T_3 AA e de 1,66% de T_4 AA numa amostra de 287948 cães com sinais compatíveis com hipotiroidismo e, num estudo mais recente, Graham et al (2007), reportaram uma prevalência de 18% de T_3 AA e 8% de T_4 AA em 11606 cães hipotiroideus. Posto isto, é possível que surjam animais hipotiroideus com concentrações de tT_4 dentro do intervalo de referência, o que constitui um grande desafio no diagnóstico da doença. Além disso, devido aos inúmeros fatores que podem influenciar as concentrações de tT_4 , este teste não pode, isoladamente, confirmar a presença de hipotiroidismo. Todavia, é bastante útil para incluir o hipotiroidismo como uma hipótese.

6.2.2 Concentração sérica de tiroxina livre (IT_4)

A T_4 livre é a fração de T_4 metabolicamente ativa, ou seja, é aquela que se encontra disponível para ser absorvida nos tecidos, pelo que a sua medição fornece, teoricamente, uma melhor representação da função tiroideia. Além disso, esta porção livre, é menos afetada que a tT_4 quer por alterações na concentração das proteínas plasmáticas ou alterações da ligação a

estas proteínas quer por fatores extra-tiroideus, como é o caso das NTI e dos T₄AA (Mooney & Shield, 2012, Mooney, 2017).

Existem 3 tipos de métodos que nos permitem obter os valores da concentração da IT₄: o método por diálise de equilíbrio (ED), o radioimunoensaio (RIA) e o método por quimioluminescência. Apenas o método que utiliza a ED é capaz de medir diretamente a concentração verdadeira de IT₄. A ED envolve a diálise da amostra testada através de uma membrana impermeável às proteínas de ligação da T₄ e aos T₄AA. Assim, somente as hormonas livres atravessam a membrana para o diolizado, que é depois submetido a um radioimunoensaio ultrasensível da T₄ (Mooney & Shield, 2012). Os valores de IT₄ medidos por outros métodos, que não a ED, são geralmente mais baixos e também mais afetados pelas NTI, o que pode levar a um diagnóstico errado de hipotiroidismo. Logo, tanto os métodos RIA como os métodos de quimioluminescência para a medição da IT₄ não oferecem qualquer vantagem face à medição da tT₄ na deteção da doença (Schachter et al., 2004).

A maior parte dos animais com hipotiroidismo possuem valores de IT₄ abaixo do intervalo de referência (Mooney, 2017). A especificidade deste método de diagnóstico é alta (>90%), exceto em animais com NTIs graves, que podem ter valores de IT₄ diminuídos (Kantrowitz, Peterson, Melián, & Nichols, 2001; Mooney, Shiel, & Dixon, 2008), sendo menos provável a ocorrência de resultados falsos positivos do que na medição da tT₄ (Mooney & Shield, 2012). Quanto à sensibilidade do método, esta é mais baixa (aproximadamente 80%) do que a verificada para a tT₄, existindo alguns animais hipotiroideus que mantêm a IT₄ dentro dos intervalos de referência, o que pode ser devido, numa fase inicial da doença, à tentativa do organismo em manter os níveis de IT₄ em concentrações adequadas (Mooney & Shield, 2012). Assim, apesar deste teste ser o mais preciso no diagnóstico de hipotiroidismo, não é um teste de primeira linha no seu diagnóstico uma vez que, é mais caro, está menos disponível, demora mais tempo a ser realizado (24 a 48h), é menos sensível e pode estar sujeito a mais erros experimentais (Mooney & Shield, 2012). A medição da IT₄ é então reservada para os casos em que os valores de tT₄ estão diminuídos, mas a TSH permanece dentro do valor de referência, pois permite diferenciar os animais com hipotiroidismo verdadeiro (valores baixos de IT₄), da síndrome do eutiroideu doente (valores de IT₄ dentro do intervalo de referência) (Mooney & Shield, 2012).

6.2.3 Concentração sérica de triiodotironina total (tT₃)

A medição da concentração de tT₃ possui um valor diagnóstico limitado, não oferecendo nenhuma vantagem quando comparado com a medição de tT₄ (Mooney, 2017). Esta limitação prende-se com o fato de esta hormona ser produzida em menor quantidade pela glândula tiroide (apenas 40% é produzida na tiroide), resultando principalmente da conversão periférica da T₄ em T₃. Assim, numa fase inicial do hipotiroidismo, a concentração de tT₃ em circulação

mantem-se dentro dos intervalos de referência (Mooney & Shield, 2012), estando descrito que cerca de 90% dos cães com hipotiroidismo mantêm os valores de tT_3 dentro deste intervalo (Peterson, Melián, & Nichols, 1997). Além disso no hipotiroidismo há uma maior prevalência de T_3 AAs do que de T_4 AAs, o que interfere com a medição da concentração de tT_3 (Mooney, 2017). Os T_3 AAs estão presentes em aproximadamente 5% das amostras de cães suspeitos de hipotiroidismo, e em >40% das amostras de cães hipotiroideus com presença de Tg AAs (Graham et al., 2007; Nachreiner et al., 2002).

A tT_3 tende a ser mais afetada pelas doenças não tiroideias que a tT_4 . Em determinadas raças, é comum a ocorrência de valores baixos de tT_3 , em associação com doenças não tiroideias e/ou administração de alguns fármacos (Mooney, 2017).

Nos galgos, animais com predisposição para terem concentrações de tT_4 fisiologicamente mais baixas que os valores de referência, sabe-se que, os seus valores de tT_3 se mantêm dentro do intervalo de referência, pelo que um valor baixo de tT_3 pode ser indicativo de hipotiroidismo (Shiel, Brennan, Omodo-Eluk, & Mooney, 2007).

6.2.4 Concentração sérica de tirotrofina basal (TSH)

No hipotiroidismo primário, devido à diminuição das hormonas tiroideias, há uma perda da retroalimentação normal que regula a síntese e secreção de TSH pela hipófise. Assim, é expectável que a maior parte dos animais hipotiroideus, apresentem concentrações de TSH acima dos intervalos de referência (Mooney & Shield, 2012).

Em 1997, foi desenvolvido um imunoensaio comercial espécie-específico para a TSH, que permitiu conhecer melhor o eixo hipófise-tiroide canino e revolucionar o diagnóstico do hipotiroidismo canino (Ferguson, 2007). Porém, a medição isolada de TSH não é recomendada uma vez que, a sua especificidade e sensibilidade não ultrapassam os 80% e 75%, respetivamente (Mooney & Shield, 2012; Peterson, Melián, & Nichols, 1997).

Quando a TSH se encontra aumentada, as suas concentrações geralmente encontram-se entre 1 a 3 μ g/l, podendo, ocasionalmente, ocorrer aumentos marcados de >10 μ g/l. O motivo deste aumento drástico na concentração de TSH é desconhecido, porém, tem sido particularmente identificado nas fases iniciais da alteração da função da tiroide (Mooney & Shield, 2012). Num estudo em cães com hipotiroidismo experimental, verificou-se um aumento marcado da concentração de TSH nos primeiros dois a quatro meses, seguido de uma diminuição gradual da TSH nos dois a três anos seguintes (Díaz-Espiñeira et al., 2008). Apesar da maioria dos cães hipotiroideus apresentarem concentrações de TSH acima dos intervalos de referência, cerca de 13 a 38% dos animais com hipotiroidismo exibem valores de TSH abaixo ou dentro deste intervalo (Dixon & Mooney, 1999b; Peterson *et al.*, 1997; Ramsey, Evans, & Herrtage, 1997; Scott-Moncrieff, Nelson, Bruner, & Williams, 1998). A presença de hipotiroidismo central é uma das razões para que isto aconteça, no entanto, neste

tipo de hipotireoidismo os valores de TSH são tão baixos que deixam de ser detetados pelo método de medição de TSH (Mooney & Shield, 2012). Está também descrita uma secreção pulsátil de TSH em cães com hipotireoidismo, apesar desta flutuação não se ter verificado em animais eutireoideus. De acordo com um estudo, os valores de TSH podem mesmo descer para valores dentro do intervalo de referência, o que é suportado pela secreção pulsátil e ultradiana de TSH em hipotireoidismo experimental (Kooistra, Diaz-Espineira, Mol, Van Den Brom & Rijnberk, 2000; Mooney & Shield, 2012). O efeito de exaustão da hipófise é outra tentativa de explicação da existência de concentrações baixas de TSH em animais hipotireoideus. Tal parece ocorrer nos casos de hipotireoidismo crónico, com consequente diminuição da produção de TSH (Mooney & Shield, 2012), tendo sido demonstrado num estudo que, com o decorrer do tempo, para além da diminuição da concentração de TSH, também ocorre diminuição da resposta à TRH (Diaz-Espineira et al., 2008). Outras hipóteses, que podem justificar o fato das concentrações séricas de TSH não estarem aumentadas em cães com hipotireoidismo, são a presença de doença não tiroideia (NTI), efeito de alguns fármacos, e a possibilidade do teste não detetar todas as isoformas de TSH (Ferguson, 2007). Existem evidências de que a presença de NTI concomitantemente com hipotireoidismo diminui as concentrações de TSH para valores dentro do intervalo de referência, pelo que a NTI deve ser tratada ou estabilizada antes de se testar para o hipotireoidismo (Mooney & Shield, 2012; Scott-Moncrieff et al., 1998). O uso simultâneo de alguns fármacos, em particular os glucocorticoides, suprimem os valores de TSH, podendo reduzir a sua concentração para valores dentro do intervalo de referência (Mooney & Shield, 2012) e, apesar de ainda não ter sido documentado em cães, tem sido postulado a existência de várias isoformas de TSH para explicar os valores inapropriadamente normais de TSH em cães com hipotireoidismo (Mooney & Shield, 2012).

O oposto também pode ocorrer ou seja, a presença de valores de TSH aumentados em cães eutireoideus. Este fenómeno ocorre geralmente na fase de hipotireoidismo compensatório. Nas fases iniciais do hipotireoidismo e durante algum tempo, a TSH pode estar aumentada antes do aparecimento de sinais clínicos ou sem que tenha havido ainda diminuição dos valores de T_4 (Scott-Moncrieff, 2015). O aumento da TSH em cães sem alteração da função tiroideia também pode estar associado à presença de NTI e à administração de alguns fármacos, nomeadamente as sulfonamidas potenciadas (Mooney & Shield, 2012).

A medição sérica de TSH é recomendada como 1ª linha no diagnóstico de hipotireoidismo, juntamente com a determinação da concentração de tT_4 , pelo fato de, na presença conjunta de uma concentração de tT_4 diminuída e de um aumento da concentração de TSH, a especificidade do diagnóstico passar a ser superior a 90%, o que torna esta combinação o “*gold standard*” do diagnóstico laboratorial inicial de hipotireoidismo. Se a esta combinação de testes se aliar, como 2ª linha de diagnóstico, a medição da concentração de IT_4 (por diálise

de equilíbrio) e a medição de TgAAs, é com elevado grau de confiança que se consegue diferenciar animais hipotiroídeos de animais eutiroídeos (Mooney & Shield, 2012).

6.2.5 Teste de estimulação com TSH

Em tempos, o teste de estimulação com TSH era considerado o “*gold standard*” no diagnóstico de hipotiroidismo (Boretti et al., 2006a; Mooney, 2017), no entanto, atualmente, a sua utilização é limitada devido ao preço elevado e à fraca disponibilidade da TSH recombinante humana (rhTSH) (Daminet, Fifle, Paradis, Duchateau & Moureau, 2007; Mooney & Shield, 2012). A TSH de origem bovina deixou de estar disponível tendo sido substituída pelo protocolo com rhTSH (Boretti et al, 2006b; Daminet, et al, 2007). Este protocolo consiste na administração intravenosa (IV) de uma dose suprafisiológica de rhTSH, seguida de uma colheita de sangue 6 horas após essa administração para medição da concentração de tT_4 , avaliando assim a “reserva funcional” da tiroide. No caso do hipotiroidismo, espera-se que a estimulação da tiroide seja mínima, ou seja, que os valores de tT_4 estejam abaixo dos valores de referência antes e após a administração de TSH (tT_4 basal $<1,5\mu\text{g/dL}$) (Ferguson, 2007; Mooney & Shield, 2012). Porém, se após a administração de TSH os valores de tT_4 forem superiores a $2,5\mu\text{g/dL}$, ou se estes apresentarem um aumento de pelo menos 1,5 vezes a concentração basal, isto é indicativo de eutiroidismo (Boretti et al., 2006a; Diaz Espineira et al., 2007; Scott-Moncrieff, 2010). A interpretação de valores intermédios é mais complicada e deve ser realizada em concordância com os sinais clínicos e a gravidade das doenças sistémicas concorrentes (Scott-Moncrieff, 2010).

A dose de rhTSH recomendada é de 50 a $75\mu\text{g/cão}$ ou $100\mu\text{g}$ para cães com $>20\text{kg}$ (Boretti, et al., 2009; Daminet et al., 2007; Sauvé & Paradis, 2000). Segundo um estudo, para distinguir o hipotiroidismo de NTI, ou eliminar a interferência de alguns fármacos no diagnóstico da doença, a dose mais recomendada é a de $150\mu\text{g/cão}$ (Boretti et al., 2009). A rhTSH reconstituída pode ser armazenada, sem que haja perda da sua atividade biológica, durante 4 semanas a 4°C , ou pelo menos, 12 semanas a -20°C (Daminet et al., 2007; De Roover, Duchateau, Carmichael, van Geffen, & Daminet, 2006). Ao contrário do que ocorreu com a TSH bovina, não foram detetadas reações adversas em cães, após administração da rhTSH (Daminet et al., 2007).

O teste de resposta à TSH não pode ser usado para avaliar a função da tiroide em cães tratados com *L*-tiroxina, uma vez que, este fármaco causa atrofia da tiroide. Como tal, o tratamento deve ser descontinuado 6 a 8 semanas antes da testagem (Scott-Moncrieff, 2010).

6.2.6 Teste de estimulação com TRH

O teste de estimulação com TRH era utilizado em alternativa ao teste de estimulação com TSH e media a concentração de tT_4 antes e após a administração IV de TRH ($10\mu\text{g/kg}$)

(Mooney, 2017). O diagnóstico de hipotireoidismo era possível se a concentração de tT_4 fosse $<1,5\mu\text{g/dL}$ após a estimulação com TRH, no entanto a ausência de uma resposta de tT_4 não confirmava a presença da doença. Alguns animais não respondiam ao teste e, além disso, uma grande variedade de NTIs ou determinados fármacos podiam levar ao mesmo tipo de resposta (Frank, 1996). Na melhor das hipóteses, uma boa resposta à TRH podia excluir o hipotireoidismo (Mooney, 2017). Assim, e atualmente, este teste é considerado pouco fiável quando comparado com a maioria dos outros testes endócrinos, não estando recomendado no diagnóstico de hipotireoidismo (Mooney & Shield, 2012).

6.3 Diagnóstico de tiroidite linfocítica

O diagnóstico definitivo deste tipo de hipotireoidismo requer biópsia da tireoide, no entanto, esta não é realizada rotineiramente na prática clínica. Sabe-se também que, visto a CLT se tratar de um processo autoimune, grande parte dos animais, possuem em circulação autoanticorpos contra diferentes antígenos da tireoide tais como contra a Tg, a T_4 , a T_3 e a TPO, pelo que a sua presença e posterior deteção no soro funcionam como marcadores de alterações patológicas inflamatórias da glândula tireoide (Mooney, 2017).

6.3.1 Anticorpos anti tiroglobulina (TgAAs)

Os autoanticorpos que se formam contra a tiroglobulina (TgAAs) representam um grupo heterogéneo dirigido a vários epítomos, devido ao tamanho e complexidade desta molécula. Quando um epítopo inclui um local hormogénico, o anticorpo pode ser dirigido contra um fragmento que contenha T_4 e T_3 (Graham et al., 2007). Os TgAA, apesar de não serem os únicos anticorpos presentes na CLT, são os mais prevalentes no cão, aparecendo numa percentagem de 36 a 50% dos cães hipotiroideos (Dixon & Mooney, 1999a; Graham et al., 2007) e, para além disso, são os mais importantes devido à existência de um método de medição comercialmente disponível e específico para a espécie canina (Mooney & Shield, 2012). Para a medição destes TgAAs estão disponíveis vários testes, sendo o mais utilizado o ELISA, uma vez que é um indicador sensível e específico de tiroidite, com uma ocorrência de falsos positivos em menos de 5% dos cães com outras doenças endócrinas (Nachreiner, Refsal, Graham, Hauptman, & Watson, 1998; Scott-Moncrieff, 2010).

A principal limitação da medição de TgAAs é que, nem todos os animais com hipotireoidismo têm tiroidite linfocítica e, mesmo os que têm, com o passar do tempo podem tornar-se negativos para estes autoanticorpos (fase de hipotireoidismo clínico com deteção de anticorpos negativa). Assim, apesar da presença de TgAAs ser fortemente sugestiva de doença tiroideia, a sua ausência não excluiu a ocorrência de tiroidite ou de hipotireoidismo (Mooney & Shield, 2012). Além disto, um título positivo de TgAAs não é indicador de alterações na função da

tiroide, pois a tiroidite subclínica pode estar presente durante longos períodos de tempo antes de evoluir para um estadio de hipotiroidismo clínico (Mooney, 2017; Scott-Moncrieff, 2010).

A presença de TgAAs em animais eutiroideus, ou seja, falsos positivos, pode dever-se a um aumento destes anticorpos por exemplo após vacinação. Segundo Scott-Moncrieff e colaboradores (2002), imunizações repetidas podem originar anticorpos contra os antigénios heterogêneos da vacina que podem, cruzadamente, reagir com antigénios caninos homólogos (Graham et al., 2007; Scott-Moncrieff, Azcona-Olivera, Glickman, Glickman, & HogenEsch, 2002). No entanto um estudo mais recente, realizado pelos mesmos investigadores, não demonstrou qualquer relação entre a vacinação e a prevalência de tiroidite em cães da raça *Beagle* (Scott-Moncrieff et al., 2006).

Sabe-se também que, dos animais eutiroideus com deteção de TgAAs positiva, nem todos progridem para o hipotiroidismo. De 171 cães eutiroideus com presença de TgAAs, apenas 4% se tornaram hipotiroideus, 13% desenvolveram alterações da tiroide sugestiva de redução da função tiroideia e 15% negativizaram para estes anticorpos (Scott-Moncrieff, 2010).

Na literatura é também sugerida a existência de uma diferente ocorrência ou tipo de progressão da tiroidite de acordo com a raça do animal (Graham et al., 2007). Além disto, estão também descritas variações consoante a idade do animal. Animais que possuem TgAAs atingem o pico por volta dos 4 a 6 anos, com uma consequente diminuição destes anticorpos atribuída à destruição da tiroide; cães mais velhos, (>10 anos), têm menor probabilidade de serem positivos para TgAAs, pelo que este teste passa a ter menos significado em animais desta faixa etária (Graham et al., 2007; Mooney & Shield, 2012). Posto isto, a probabilidade de se identificar um resultado positivo para estes autoanticorpos aumenta significativamente quando se testa uma raça predisposta com o intervalo de idade apropriado (Mooney & Shield, 2012). As medições de TgAAs poderiam então ser usadas como um marcador de tiroidite, em cães clinicamente saudáveis, o que seria útil para os criadores, uma vez que, estes poderiam identificar os animais com predisposição para a tiroidite linfocítica e eliminá-los dos programas de reprodução (Mooney & Shield, 2012).

A época do ano (verão), também tem sido apontada como um fator que pode contribuir para a ocorrência de evidências precoces de tiroidite linfocítica, embora o seu mecanismo seja ainda desconhecido (Graham et al., 2007).

O uso deste teste de diagnóstico isoladamente não é recomendado, todavia tem grande utilidade quando utilizado juntamente com outros testes de diagnóstico (medição da concentração de tT_4 ou de IT_4 e de TSH). Nos casos em que existe uma diminuição da tT_4 ou da IT_4 , mas a TSH permanece dentro dos intervalos de referência, a medição dos TgAAs pode ser bastante útil. Para além disto, a medição dos TgAAs é menos afetada pelos fármacos, o que torna este método uma segunda linha no diagnóstico, em ambas as situações (Mooney & Shield, 2012).

6.3.2 Biópsia da tiroide

A biópsia da tiroide é o método de diagnóstico mais sensível e definitivo na identificação de lesões na tiroide, porém a presença de lesões tiroideias não significa necessariamente a presença de anomalias na sua função (Scott-Moncrieff, 2010). Além disso, as variações da aparência histológica da tiroide podem ser confundidas com casos de hipotireoidismo secundário, atrofia primária da tiroide ou hiperplasia das células foliculares, ou até mesmo com alterações do aspeto morfológico da tiroide provocadas por outras doenças concomitantes (Scott-Moncrieff, 2015). Posto isto, e por ser um método muito invasivo, raramente está indicado para o diagnóstico clínico de disfunção da tiroide em cães (Scott-Moncrieff, 2010).

6.4 Diagnóstico Imagiológico

O recurso à imagem tem sido aplicado principalmente na investigação de neoplasias e de situações de hiperfunção da tiroide no ser humano e em gatos. Recentemente, devido ao desenvolvimento da ultrassonografia (US) e de técnicas de imagem mais avançadas como a ressonância magnética (RM) e a tomografia computadorizada (TC), a sua aplicação, no diagnóstico de hipotireoidismo, tem demonstrado um interesse crescente, apesar da sua utilidade na prática clínica ainda ser bastante reduzida (Mooney, 2011; Taeymans, Peremans, & Saunders, 2007).

É ainda importante referir que, embora as técnicas imagiológicas representem um grande valor na investigação de casos de hipotireoidismo complexos, principalmente pelo fato de serem menos afetados pelas NTI e pelos fármacos, do que os testes endócrinos (Mooney & Shield, 2012), são ainda necessários mais estudos para que sejam recomendadas numa abordagem clínica geral (Mooney & Shield, 2012).

6.4.1 Radiografia da tiroide

O exame radiográfico não tem interesse na investigação de hipotireoidismo primário adquirido, uma vez que, não se verifica um aumento da glândula tiroide (Taeymans et al., 2007).

6.4.2 Ultrassonografia da tiroide

O aspeto da tiroide pode variar bastante, estando descritas alterações da imagem consoante a raça, e ainda consoante a experiência e capacidade de interpretação das imagens pelo operador (Brömel et al., 2006; Mooney, 2017), motivos pelos quais, este não é um método de diagnóstico muito usado na prática clínica para diagnosticar hipotireoidismo. No entanto, segundo vários estudos, a US tem sido reportada como útil em cães com suspeita de hipotireoidismo, uma vez que se encontra descrito o aspeto ecográfico da tiroide em cães saudáveis/eutiroideus e em cães com hipotireoidismo (Brömel et al., 2005; Reese, Breyer,

Deeg, Kraft, & Kaspers, 2005; Taeymans et al., 2007). Segundo o estudo de Brömel et al (2005), não existem diferenças ecográficas significativas da tiroide entre indivíduos saudáveis e indivíduos eutiroideos com NTI diagnosticada. Contrariamente, em animais com hipotiroidismo, a tiroide apresenta-se alterada, com os lobos mais redondos ou ovais, com diminuição do seu tamanho e volume e consequentemente com diminuição do volume total da glândula; o parênquima aparece mais hipoeecogénico que o músculo circundante (Brömel et al., 2005; Mooney, 2017). Num estudo de Reese et al (2005), não foram encontradas diferenças significativas no volume relativo da tiroide (volume da tiroide em relação ao peso do animal) nem na “*maximum cross-sectional surface área*” (MCSA) em cães saudáveis nem em cães com a síndrome do eutiroideu doente, porém estes autores encontraram diferenças significativas no volume relativo da tiroide e na MCSA entre animais eutiroideos e hipotiroideos. Estes autores consideraram então, que o volume relativo da tiroide é o parâmetro com maior especificidade na diferenciação entre animais hipotiroideos e eutiroideos (Reese et al., 2005).

6.4.3 Tomografia computadorizada e ressonância magnética da tiroide

Dado o custo elevado destes exames e a necessidade de anestesia geral para a sua realização, é pouco provável a sua utilização no diagnóstico de hipotiroidismo primário (Mooney, 2017). No entanto, o seu uso pode ser promissor na investigação de casos de hipotiroidismo central associado a lesões estruturais da hipófise e/ou hipotalâmicas (Mooney & Shield, 2012).

As características da tiroide, em animais saudáveis, encontram-se documentadas tanto para a TC como para a RM (Taeymans et al., 2008a; Taeymans, Dennis, & Saunders, 2008b). Além disso, a presença de alterações do tamanho e do parênquima da glândula tiroide, teoricamente permitem diferenciar entre indivíduos eutiroideos e hipotiroideos (Mooney & Shield, 2012). Em cães com hipotiroidismo primário experimental é possível detetar, na TC, um aumento da hipófise secundário à hiperplasia tirotrópica e à deficiência das células da tiroide, no entanto, estas alterações não são específicas do hipotiroidismo (Diaz-Espiñeira et al., 2008; Mooney & Shield, 2012).

6.4.4 Cintigrafia

Antes da introdução dos imunoensaios, foi descrito o uso de técnicas médicas nucleares concebidas para conhecer a função da tiroide (Mooney & Shield, 2012). Estas técnicas envolvem a administração de tecnécio-99m (como o pertecnetato radioativo, $^{99m}\text{TcO}_4^-$) ou de iodo radioativo (^{123}I ou ^{131}I), que são captados pela tiroide. Posteriormente à administração de uma das substâncias mencionadas, é quantificada (através de uma câmara ou contador de cintilação) a sua captação pela tiroide, a qual emite radiações gama (Peremans, 2012). O uso

do $^{99m}\text{TcO}_4^-$ é preferível ao iodo radioativo uma vez que, o primeiro possui um custo mais baixo, um tempo de semivida mais curto e uma captação mais rápida, sendo necessária uma dose menor de radiação (Mooney & Shield, 2012).

A cintigrafia foi sugerida como sendo a técnica mais precisa para diferenciar animais hipotiroideus de animais eutiroideus, através do cálculo da captação de $^{99m}\text{TcO}_4^-$. Em cães com hipotiroidismo, os valores de captação variam entre 0,03 e 0,26% e em cães eutiroideus mas com concentrações baixas de tT_4 , estes valores tendem a variar entre 0,39 e 1,86% (Diaz Espineira et al., 2007; Shiel, Pinilla, McAllister, & Mooney, 2012).

No cão, foi demonstrado que o excesso de glucocorticoides pode suprimir a captação de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ pela tiroide (Shiel et al., 2012). Também no Homem, foram registadas alterações na absorção destes radioisótopos em situações de NTI grave e de administração de fármacos, assim como alterações na aparência da cintigrafia em doenças inflamatórias da tiroide (Shiel et al., 2012), pelo que, embora este método de diagnóstico seja útil na avaliação da função da tiroide, e pareça ser promissor em alguns casos específicos (confirmação de eutiroidismo em animais da família dos galgos, investigação de hipotiroidismo central e diferenciação de disgenesia e de disormonogénese no hipotiroidismo congénito), não é um teste de primeira linha. Além disso, são necessários equipamentos e instalações especiais para a sua realização, o que o torna ainda menos acessível (Mooney, 2017; Pinilla, Shiel, Brennan, McAllister, & Mooney, 2009).

7. Efeito de doenças não tiroideias (NTI) na concentração de hormonas tiroideias

O termo doença não-tiroideia (NTI – *nonthyroidal illness*) ou “síndrome do eutiroideu doente”, é utilizado para descrever alterações nas concentrações das hormonas tiroideias secundariamente a doenças agudas ou crónicas (Mooney, 2017). Assim, quando se verificam alterações nas concentrações séricas das hormonas da tiroide, em resposta a um estado de doença, num cão eutiroideu, dizemos que estamos perante uma NTI.

Segundo Mooney (2017) e Scott-Moncrieff (2010), existem inúmeros mecanismos que potenciam esta diminuição hormonal nomeadamente: a diminuição da conversão periférica da T_4 em T_3 ; a alteração na ligação hormonal às proteínas de ligação do soro (por exemplo, diminuição da concentração de proteínas, diminuição da afinidade de ligação a estas, inibidores da ligação em circulação); a alteração do metabolismo das hormonas da tiroide (por exemplo, diminuição da atividade da 5'-desiodinase); alterações na expressão ou função do recetor da hormona da tiroide, ou função hipotalâmica/hipofisária alterada. A presença de glucocorticoides e citocinas em circulação, incluindo a IL (*interleukin*) e o $\text{TNF-}\alpha$ (*tumor necrosis factor alfa*), podem também desempenhar um papel preponderante no desenvolvimento de algumas das alterações descritas na NTI (Mooney & Shield, 2012;

Panciera, Helfand, & Soergel, 1995). Um estudo preliminar demonstrou ainda um decréscimo da concentração de transtiretina em cães com NTI (Piechotta, Jens, Rick, Beyerbach, & Hoppen, 2012).

Inúmeras doenças, que envolvem vários sistemas orgânicos, têm sido associadas à diminuição das hormonas da tiroide (Mooney, 2017). A síndrome do eutiroides doente foi diagnosticada em cães com hiperadrenocorticismo (Ferguson & Peterson, 1992), neoplasias (Vail, Panciera, & Ogilvie, 1994), diabetes *mellitus*, hipoadrenocorticismo, insuficiência renal, insuficiência cardíaca congestiva, doença hepática (Mooney & Shield, 2012; Panciera & Refsal, 1994), neuropatias periféricas e megaesófago (Nelson, Ihle, Feldman, & Bottoms, 1991; Scott-Moncrieff, 2012), doenças infecciosas como parvovirose e babesiose (Schoeman & Herrtage, 2008; Schoeman, Rees, & Herrtage, 2007), e outras doenças que necessitem de cuidados intensivos (Elliott, King, & Zerbe, 1995). Por outro lado, a concentração das hormonas tiroideias, parece não ser afetada pela presença de osteoartrite, alopecia sazonal do flanco, dermatite atópica e piodermite (Daminet & Paradis, 2000; Miller, Nelson, Scott-Moncrieff, Neal, & Bottoms, 1992; Paradis *et al.*, 2003; Mooney, 2017).

O grau de supressão hormonal reflete a gravidade da doença e o seu prognóstico (Elliott *et al.*, 1995; Mooney *et al.*, 2008). No Homem, a alteração mais comumente associada a NTI é a supressão da concentração de tT_3 circulante com permanência dos valores de tT_4 dentro dos intervalos de referência (Mooney, 2017; Warner & Beckett, 2010). Neste, à medida que a doença progride, ocorre supressão de ambas as hormonas da tiroide (T_3 e T_4), estando tal achado associado a um pior prognóstico (Elliott *et al.*, 1995; Kantrowitz *et al.*, 2001; Mooney *et al.*, 2008). As concentrações de IT_4 e de TSH são menos afetadas, exceto em casos de doença grave, onde ambas podem estar suprimidas. Ocasionalmente, podem ser observados aumentos transitórios da concentração de IT_4 (Mooney, 2017).

Nas NTI moderadas a graves, verifica-se uma diminuição da concentração das hormonas tT_4 , IT_4 e tT_3 ; nas NTI menos complicadas não são expectáveis alterações nas concentrações das hormonas da tiroide, ou o impacto na função tiroideia é mínimo (Kantrowitz *et al.*, 2001).

Segundo um estudo de Mooney *et al.* (2008), em animais com NTI, pode ocorrer uma diminuição da tT_3 isoladamente ou em associação a uma diminuição da tT_4 . Além disso, de acordo com os mesmos autores, a quantidade de cães com diminuição da tT_3 (75,9%) é superior à percentagem de animais com valores reduzidos de tT_4 (34,7%) e a recuperação dos animais é menor, em pacientes com concentrações diminuídas de tT_4 , IT_4 e tT_3 . As concentrações de tT_3 foram significativamente mais baixas em cães eutanasiados, pelo que este valor parece ser o melhor indicador de prognóstico (Mooney *et al.*, 2008).

A fase de recuperação da NTI está também associada a um aumento da concentração de TSH, o que pode ser devido à necessidade de aumento de produção de hormonas tiroideias para um retorno ao eutiroidismo (Mooney & Shield, 2012).

Por fim, de acordo com o estudo de Kantrowitz et al (2001), a ocorrência simultânea de concentrações baixas de tT_4 e de lT_4 e aumentadas de TSH, em cães com NTI, é rara, ocorrendo em cerca de 1,8 % dos animais. Estes autores recomendam a avaliação da função da tiroide com base numa boa história pregressa, num exame físico cuidado, juntamente com a interpretação dos resultados laboratoriais, de modo a não se diagnosticar erradamente hipotiroidismo nestes animais.

8. Efeito dos fármacos na função tiroideia

Vários fármacos são capazes de afetar os resultados das concentrações hormonais da tiroide e levar a uma avaliação errada da função desta glândula. Estas substâncias podem alterar a síntese, a secreção, o transporte ou o metabolismo das hormonas da tiroide e, alguns, podem mesmo afetar diretamente o eixo hipotálamo-hipófise-tiroide (Daminet & Ferguson, 2003). Os fármacos capazes de provocar alterações na função tiroideia incluem, mas não exclusivamente, os glucocorticoides, os anticonvulsivos, os anti-inflamatórios não esteroides (AINES) (Sylvie Daminet & Ferguson, 2003; Kantrowitz, Peterson, Melián, & Nichols, 1999; Panciera, Refsal, Sennello, & Ward, 2006) e as sulfonamidas potenciadas (Brenner, Harkin, & Schermerhorn, 2009; Daminet & Ferguson, 2003; Seelig, Whittemore, Lappin, Myers, & Avery, 2008). Para a maior parte destes fármacos, é a dose e a duração da terapêutica que ditam a magnitude do seu efeito sobre a tiroide (Mooney, 2017). Fármacos como a clomipramida e o propranolol foram descartados como potenciais causadores de alterações na função da tiroide (Daminet & Ferguson, 2003; Gulikers & Panciera, 2003).

As sulfonamidas inibem reversivelmente a tiroperoxidase (TPO), o que resulta na diminuição da secreção das hormonas da tiroide (Mooney, 2017). Os tirotrópos hipofisários, respondem a esta diminuição das hormonas da tiroide, através da redução do mecanismo de retroalimentação negativo, existindo assim um aumento da secreção de TSH (Gulikers & Panciera, 2002). Além disso, estas substâncias, para além de poderem alterar os testes endócrinos, também são capazes de induzir o hipotiroidismo clínico (induzem o hipotiroidismo iatrogénico). Os doseamentos hormonais de animais com hipotiroidismo iatrogénico são indistinguíveis dos de animais com hipotiroidismo espontâneo, só sendo possível a sua distinção através, eventualmente, de uma cintigrafia da tiroide (Gulikers & Panciera, 2002). Vários estudos têm sido realizados de modo a avaliar os efeitos da administração das sulfonamidas na tiroide, sendo que a maioria descreve que, administrações de doses elevadas de trimetoprim-sulfametoxazol durante 3 semanas ou mais, têm a capacidade de induzir o hipotiroidismo clínico (Frank, Hnilica, May, Sargent, & Davis, 2005; Williamson, Frank, & Hnilica, 2002). Além disso, segundo Brenner et al (2009), o hipotiroidismo tende a desenvolver-se com o aparecimento de sinais clínicos, com o tratamento com trimetoprim-sulfametoxazol na dose de 40mg/kg PO q12h, apresentando os animais diminuição das

concentrações de tT_4 , tT_3 e IT_4 e aumento da TSH. Os efeitos destas substâncias na função tiroideia são reversíveis, sendo o tempo necessário para a normalização da glândula variável entre os 7 dias e as 12 semanas após a interrupção da terapêutica (Gulikers & Panciera, 2002). Os testes de função para a tiroide só devem ser realizados 8 a 12 semanas após essa interrupção (Daminet & Ferguson, 2003).

Os glucocorticoides inibem diretamente o eixo hipotálamo-hipófise-tiroide, inibindo a secreção de TSH e influenciam o metabolismo periférico das hormonas da tiroide. Uma das principais ações destas substâncias é a inibição da enzima 5'-monodesiodinase, o que origina uma diminuição da conversão periférica de T_4 em T_3 e uma diminuição do metabolismo da rT_3 . Assim, há uma diminuição das concentrações de tT_4 , IT_4 , tT_3 e TSH, e um aumento da concentração de rT_3 . Além disso, estes fármacos diminuem a ligação da T_4 à globulina de ligação às hormonas da tiroide (TBG) e aumentam a sua ligação à transtiretina ou pré-albumina (TBPA) (Daminet & Ferguson, 2003; Gulikers & Panciera, 2002). Os efeitos dos glucocorticoides são dependentes da dose, da duração da terapêutica, da via de administração e do tipo de preparação usada. Em cães, a administração de doses imunossupressoras (1,1-2mg/kg PO q12h), durante 3 a 4 semanas, resulta numa diminuição significativa da concentração de tT_4 e, em menor escala de IT_4 , mas sem alterações da concentração de TSH (Daminet & Ferguson, 2003). Num estudo mais recente, em que cães hipotiroideus foram submetidos a uma dose anti-inflamatória de prednisona (1,0mg/kg PO, q24h durante 7 dias e q48h durante 14 dias), verificou-se uma diminuição da tT_4 após os 7 dias, com concentrações inalteradas de IT_4 e TSH. Verificou-se ainda que, apesar das concentrações de tT_4 se encontrarem significativamente diminuídas ao fim dos 7 dias de tratamento, essa diminuição não se verificava aos 21 dias nem aos 28 dias de tratamento (O'Neill, Frank, & Reynolds, 2010). A aplicação tópica de uma loção dérmica, contendo dexametasona, durante 21 dias provoca uma diminuição das concentrações de tT_3 e de tT_4 em cães, já a aplicação da mesma substância, mas em gotas para os ouvidos, provoca uma diminuição mais gradual da concentração de tT_4 e possui menor influência na concentração de tT_3 . Concentrações hormonais baixas tendem a permanecer até sete dias após o fim da terapêutica (Gottschalk, Einspanier, Ungemach, & Abraham, 2011). Em cães com hiperadrenocorticismo que iniciaram tratamento com trilostano, também se verifica um aumento significativo da concentração de TSH, sem alteração significativa na concentração de tT_4 , o que reforça a hipótese da supressão da TSH, como um dos efeitos dos glucocorticoides no eixo hipotálamo-hipófise-tiroide (Kenefick & Neiger, 2008).

Os AINES possuem a capacidade de alterar a função da tiroide, tanto no Homem como no rato, devido à diminuição da ligação das hormonas tiroideias às proteínas de transporte plasmáticas. Consequentemente, ocorre um aumento transitório na concentração de IT_4 , que serve como um mecanismo de retroalimentação negativo para o hipotálamo e para a hipófise,

resultando na diminuição da concentração de T_4 no soro, apesar da concentração normal de IT_4 (Gulikers & Panciera, 2002). No cão, os estudos realizados sobre este tipo de fármacos são ainda limitados. Segundo vários estudos, AINES como é exemplo o deracoxib, o carprofeno, o meloxicam, o cetoprofeno e o etodolac não demonstraram qualquer efeito na função da tiroide (Daminet et al., 2003; Panciera & Johnston, 2002; Panciera et al., 2006; Sauvé et al., 2003), contrariamente ao ácido acetilsalicílico (AAS). Daminet e colaboradores (2003) descreveram uma diminuição da concentração de tT_4 e de tT_3 , sem alteração da concentração de IT_4 , associada a doses terapêuticas de AAS. Esta não alteração da IT_4 parece estar de acordo com a hipótese de que os AINES podem competir com as ligações da T_4 às proteínas de transporte, aumentando a sua componente livre. Por outro lado, segundo Panciera et al (2006), verificou-se uma diminuição das concentrações de tT_4 , tT_3 e IT_4 em animais aos quais lhes foi administrada uma dose analgésica e anti-inflamatória de AAS. Em ambos os estudos, não ocorreram alterações na concentração de TSH. Assim, apesar de alguns AINES diminuírem a concentração de tT_4 no Homem e no cão, a magnitude desta alteração é reduzida, não existindo ainda relatos de casos de hipotireoidismo iatrogénico provocado por estes fármacos (Gulikers & Panciera, 2002).

O fenobarbital é um fármaco anticonvulsivo que leva à diminuição da concentração das hormonas da tiroide por aumento do metabolismo hepático da T_4 , secundário a uma indução da enzima microssomal hepática e por aumento da depuração biliar das hormonas da tiroide (Daminet & Ferguson, 2003; Gulikers & Panciera, 2002). A sua administração causa uma diminuição da concentração de tT_4 e de IT_4 , podendo a TSH estar dentro dos intervalos de referência ou moderadamente aumentada, sem evidências clínicas de hipotireoidismo (Daminet & Ferguson, 2003; Gaskill et al., 2000; Gulikers & Panciera, 2002; Kantrowitz et al., 1999). Geralmente a função da tiroide tende a normalizar ao fim de 1 a 4 semanas após o fim da terapêutica com fenobarbital (Daminet & Ferguson, 2003; Gulikers & Panciera, 2002). Uma alternativa ao fenobarbital é a utilização de brometo de potássio, uma vez que este anticonvulsivo não parece afetar a função tiroideia (Gulikers & Panciera, 2002; Kantrowitz et al., 1999; Paull et al., 2003).

Tendo em conta os efeitos que determinados fármacos podem ter na concentração das hormonas tiroideias, os testes para o diagnóstico de hipotireoidismo devem, quando possível, ser adiados até à remoção destes fármacos e à normalização da tiroide. Devido à falta de estudos no cão e, por prevenção, deve-se considerar a possibilidade de qualquer fármaco ser capaz de suprimir a função tiroideia e consequentemente, influenciar o diagnóstico de hipotireoidismo (Mooney & Shield, 2012).

9. Tratamento e monitorização terapêutica

Todos os animais com hipotireoidismo necessitam de suplementação hormonal para o resto da vida. O tratamento inicial de escolha, independentemente da causa do hipotireoidismo, é a levotiroxina ou *L*-tiroxina sódio sintética. A T_4 encontra-se disponível em diversas formas incluindo, comprimidos e formulações líquidas para administração oral (Mooney, 2017). O tratamento com T_3 sintética não é recomendado exceto, nos casos em que a absorção intestinal de T_4 é baixa (a absorção intestinal de T_3 é quase 100%), pois esta hormona possui um tempo de semivida mais curto, requer três administrações por dia e pode provocar, mais facilmente que a T_4 , hipertireoidismo iatrogénico (Scott-Moncrieff, 2010; Mooney, 2017). O uso de extratos de tireoide liofilizados também é desaconselhado devido à dificuldade de estabelecimento da dose diária apropriada. Produtos que contenham uma combinação de T_3 e T_4 também não são recomendados no cão, pois resultam normalmente num excesso de T_3 e elevam o risco de se desenvolver hipertireoidismo iatrogénico (Mooney, 2017).

A *L*-tiroxina tem um tempo de semivida de 10 a 14 horas em cães, uma taxa de catabolismo no soro de 6,8 $\mu\text{g/kg/dia}$ e uma biodisponibilidade, quando administrada por via oral, de 10 a 50% (Nachreiner et al., 1993, Scott-Moncrieff, 2010), sendo esta menor quando a substância é administrada juntamente com a comida (Le Traon, Burgaud, & Horspool, 2008). Segundo alguns autores, esta biodisponibilidade é menor quando se usam comprimidos, em detrimento de formulações líquidas orais (Simpson, Devi, & Whitem, 2013), ou quando o produto é um genérico (Mooney & Shield, 2012). Quando administrada por via oral, a T_4 é rapidamente absorvida, atingindo a concentração máxima no sangue ao fim de 3 a 5 horas (Mooney, 2017). A composição da dieta, nomeadamente dietas ricas em fibra, pode influenciar a absorção da T_4 (Mooney, 2017; Scott-Moncrieff, 2015).

A dose, a frequência de administração e o efeito do fármaco variam consoante o animal. Tal ocorre devido à variabilidade de absorção da T_4 e à sua semivida, pelo que é extremamente importante monitorizar estes animais de modo a obter-se um melhor ajuste da dose (Mooney, 2017). A dose ótima de *L*-tiroxina é variável entre cães, no entanto, atualmente, é aceite a dose de 0,02-0,022 mg/kg a cada 24 horas (SID) para a maioria dos animais (sendo a dose máxima 0,8mg por cão) (Mooney, 2017; Mooney & Shield, 2012). Porém, segundo Scott-Moncrieff (2010) é recomendada, numa fase inicial, a administração de T_4 duas vezes ao dia (BID), de modo a maximizar a resposta ao tratamento e se, os sinais clínicos se resolverem e a concentração de T_4 passar a estar dentro dos intervalos de referência, a frequência de administração poderá então ser reduzida para SID. As vantagens práticas da administração de levotiroxina SID são, sem dúvida, a adesão à terapêutica por parte dos tutores e o fato de ser um protocolo terapêutico menos dispendioso (Mooney, 2017).

A tirotoxicose é bastante incomum em cães suplementados com *L*-tiroxina, estando descrito que alguns cães requerem doses 20 vezes superiores à dose ótima de T_4 , para que ocorra

tirotoxicose (Dixon, Reid, & Mooney, 2002; Mooney, 2017). Os principais sinais clínicos de tirotoxicose incluem: poliúria, polidipsia, polifagia, taquipneia, perda de peso, hiperatividade, taquicardia e hipertermia. Nestes casos a dose e a frequência do tratamento devem ser ajustados, podendo mesmo ser necessário a interrupção da terapêutica (Mooney & Shield, 2012). Os sinais de tirotoxicose tendem a resolver-se poucos dias após a interrupção da terapêutica (Mooney, 2017).

A eficácia do tratamento com *L*-tiroxina deve ser avaliada ao fim de 4 a 8 semanas após início da terapêutica ou, no caso de alteração da dosagem, ao fim de 15 dias após essa alteração (Dixon, Reid, & Mooney, 2002; Scott-Moncrieff, 2010). A monitorização da terapêutica inclui a avaliação da resposta clínica à suplementação hormonal e os doseamentos da T_4 e da TSH. Estes doseamentos devem ser realizados imediatamente antes e 4 a 6 horas após a administração de levotiroxina se esta for administrada BID ou somente 4 a 6 horas quando administrada SID (Nachreiner et al., 1993). O sucesso na resposta em cães tratados SID está associado a uma média do pico de concentração de tT_4 de aproximadamente 50nmol/L; valores abaixo de 35nmol/L estão geralmente associados a uma inadequada resposta clínica, sendo indicado um aumento da dose; valores acima de 90nmol/L podem ocorrer ocasionalmente nalguns animais, embora os cães sejam relativamente resistentes à tirotoxicose. Quando a administração é BID, os valores de tT_4 podem estar no limite superior ou ligeiramente acima do valor normal de referência (4 a 6 horas após a administração), permanecendo dentro dos intervalos de referência antes da administração da dose seguinte (Mooney, 2017).

A medição da concentração de TSH permite reconhecer a adesão dos tutores à terapêutica, uma vez que, demonstra a eficácia do tratamento a longo prazo, ao contrário da medição da concentração de tT_4 que apenas fornece informação do tratamento realizado no próprio dia. Uma concentração aumentada de TSH permite afirmar que é necessário aumentar a dose de *L*-tiroxina, no entanto, concentrações normais ou diminuídas desta hormona não permitem aferir sobre a eficácia da terapêutica, não se conseguindo distinguir entre animais suplementados adequadamente e incorretamente (Dixon et al., 2002; Mooney, 2017; Scott-Moncrieff, 2010).

As concentrações de T_4 devem ser medidas de 4 a 8 semanas em 4 a 8 semanas, durante os primeiros 6 meses de tratamento. Depois de identificada a dose correta de manutenção, as monitorizações de seguimento passam a ser bianuais (Mooney & Shield, 2012).

A eficácia da terapêutica deve ser igualmente baseada na resposta clínica e na presença ou ausência de doenças concomitantes, para além da monitorização laboratorial (Dixon et al., 2002). A normalização dos parâmetros sanguíneos ocorre, geralmente, em paralelo com a resposta clínica ao tratamento. O colesterol e os triglicéridos tendem a diminuir, drasticamente, em pouco tempo, enquanto a anemia vai melhorando durante os primeiros 3

meses. A frutamina decresce significativamente, enquanto o *turnover* proteico vai aumentando por estabilização do metabolismo (Dixon et al., 2002). Os sinais de alterações metabólicas, como a letargia, são os primeiros a demonstrar melhorias (primeira ou segunda semana); a perda de peso (cerca de 10%) deve ser evidente ao fim dos primeiros meses. Os sinais dermatológicos, começam a melhorar ao fim de 1 mês, mas só normalizam ao fim de 2 a 3 meses (Mooney, 2017). Inicialmente os animais parecem piorar, uma vez que todos os pelos em telogénese acabam por cair, para dar origem a um novo ciclo de crescimento do pelo (Mooney & Shield, 2012). O desaparecimento dos sinais neurológicos é mais variável. As neuropatias periféricas tendem a melhorar ao fim de 1 a 3 meses; os sinais do SNC podem demorar mais de 6 meses. As melhorias na função cardiovascular (e no ECG) devem ser visíveis nas primeiras 8 semanas, podendo demorar até 12 meses (Mooney & Shield, 2012). Quando estamos perante um coma por mixedema (muitas vezes associado a um decréscimo significativo no metabolismo e, potencialmente hipovolémia/desidratação) a T₄ deve ser administrada, pelo menos numa fase inicial, via intravenosa na dose de 4-5 µg/kg cada 12 horas. Outras medidas terapêuticas de suporte, aplicadas nestes casos, passam por uma fluidoterapia apropriada, pelo aquecimento do animal e pela ventilação do paciente, se necessário. Assim que o animal se encontrar estável a via de administração pode ser alterada para a via oral (Henik & Dixon, 2000; Pullen & Hess, 2006).

Em animais que apresentem outras doenças concomitantes como doença cardíaca, hipoadrenocorticism ou diabetes *mellitus*, é recomendada uma introdução gradual da suplementação de T₄ (25 a 50% da dose inicial).

Um diagnóstico incorreto de hipotireoidismo é a principal causa de insucesso terapêutico. Este insucesso terapêutico também pode ser devido a baixas concentrações de T₄ em circulação, consequência de uma dose ou frequência de administração desajustadas (Mooney, 2017). Animais com a síndrome do eutiroides doentes podem muitas vezes confundir o diagnóstico. Outras causas de falha terapêutica incluem má absorção de T₄ a nível gastrointestinal ou a falta de adesão à terapêutica por parte dos tutores (Scott-Moncrieff, 2010).

10. Prognóstico

O prognóstico desta doença depende da etiologia e da idade em que se inicia o tratamento, sendo excelente na maioria dos animais adultos com hipotireoidismo primário (Mooney, 2017). Neste caso, ocorre resolução da maioria dos sinais clínicos, se não todos, com a suplementação hormonal. No caso de coma mixedematoso, o prognóstico vai depender da precocidade do diagnóstico (Scott-Moncrieff, 2010).

O prognóstico em cachorros com hipotireoidismo congénito e em cães com hipotireoidismo secundário, originado pela destruição ou malformação hipofisária, é reservado. O

hipotireoidismo secundário adquirido, muitas vezes resultado de massas que se instalam na hipófise, tem também um mau prognóstico (Scott-Moncrieff, 2015).

CAPÍTULO IV– PROJETO DE INVESTIGAÇÃO: DETERMINAÇÃO DO INTERVALO FISIOLÓGICO DE T₄ E TSH EM CÃO DE ÁGUA PORTUGUÊS

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem-Estar Animal (CEBEA) e parcialmente financiado pelo Centro de Investigação Interdisciplinar de Sanidade Animal (CIISA) (projeto mimv1) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL), sendo o restante financiado pelos fundos disponibilizados pela orientadora para projetos no âmbito da Dermatologia.

1. Introdução

É sabido que, a realização de testes específicos para a função tiroideia nem sempre resulta num diagnóstico definitivo de hipotireoidismo. Para além disto, sabe-se que a maior parte dos laboratórios, utilizam intervalos de referência (RIs) não específicos para a raça, na interpretação dos resultados laboratoriais (Friedrichs et al., 2012; Walton, 2012). Estes RIs variam de acordo com o procedimento utilizado na sua obtenção, porém não são tidos em consideração fatores biológicos como é exemplo a idade, o peso corporal e a raça do animal. Este fato pode ter efeitos negativos para o paciente, na medida em que RIs inadequados podem levar a decisões clínicas erradas.

A influência que a genética possui nos RIs é cada vez mais evidente. Nos seres humanos, a etnia foi proposta como um fator para a obtenção de diferentes RIs (Lim et al., 2015).

Nos cães, sabe-se que as barreiras raciais levaram a um forte isolamento genético, sendo a variância genética total observada entre as raças caninas de 27%, em comparação com os 5 a 10% verificados no Homem (Parker et al., 2004; Pires et al., 2006). Isto, aliado à evidente diversidade morfológica que se verifica nas raças caninas (400 raças homologadas pela FCI), permite-nos questionar a importância da existência de RIs também adaptados às raças de cães.

Algumas raças, podem ter concentrações hormonais que diferem significativamente dos intervalos de referência não específicos (Hegstad-Davies et al., 2015; Panakova, 2008; Seavers, Snow, Mason, & Malik, 2008). Além disso, como já mencionado nesta dissertação, sabe-se que determinadas raças apresentam uma predisposição para o hipotireoidismo, embora esta doença possa ocorrer em qualquer tipo de cães. Por conseguinte, e principalmente para estas raças, surgiu a necessidade de determinar os intervalos de referência específicos, de modo a impedir que determinadas doenças sejam sobrevalorizadas, e mais importante que isto, que os animais sejam tratados para uma doença que não possuem.

2. Objetivos

O presente estudo tem como objetivo contribuir para a determinação dos valores fisiológicos de T_4 e de TSH em Cão de Água Português, propondo um intervalo de valores de referência para os parâmetros analisados.

A escolha desta raça prendeu-se com o fato de ser uma raça nacional ainda pouco estudada, e muito apreciada em Portugal e no mundo, com predisposição para o hipotireoidismo.

A escolha da medição das concentrações de tT_4 e de TSH deveu-se ao fato de serem considerados o “*gold standard*” do diagnóstico laboratorial inicial de hipotireoidismo, uma vez que conjuntamente têm uma elevada sensibilidade e especificidade diagnóstica.

3. Materiais e Métodos

3.1 Critérios de seleção da amostra

Os criadores nacionais de cães da raça Cão de Água Português foram contactados através de uma lista de criadores cedida pelo Clube Português de Canicultura, bem como alguns tutores de animais desta raça, tendo-lhes sido dado a conhecer o projeto a desenvolver. A autorização da participação do animal no estudo foi formalizada através da assinatura de um termo de consentimento informado pelo respetivo tutor.

Para a determinação dos intervalos de referência supramencionados, interessava-nos exclusivamente animais “saudáveis”. Estes animais foram então selecionados tendo por base a sua história pregressa, um exame físico completo, os resultados das análises sanguíneas (hemograma, colesterol) e dos doseamentos hormonais (tT_4 e TSH). No momento imediatamente anterior à colheita de sangue, os tutores destes animais responderam a um breve questionário (Anexo 2), donde foi possível obter algumas informações relativas à anamnese (estado reprodutivo, gravidez e aleitamento, atividade e origem dos animais, tipo de alimentação, administração de fármacos, existência de sinais clínicos e/ou de doenças prévias ou atuais) que nos levassem à exclusão desses animais da participação no projeto, e foi realizado um exame físico completo a cada animal, com anotação das respetivas alterações encontradas. Foram ainda realizadas análises de sangue (hemograma e colesterol) de modo a aferir sobre o estado de saúde do animal no momento da colheita de sangue.

Animais que não cumprissem os critérios de inclusão referidos na Tabela 3 incluindo, nomeadamente, cães que apresentassem alterações na anamnese ou no exame físico, alterações significativas no hemograma que não pudessem ser justificadas por uma resposta transitória ao stress (por exemplo leucograma de stress), ou no doseamento do colesterol (hipercolesterolemia) e animais cuja amostra não se apresentasse em bom estado (por exemplo: presença de coágulo no tubo de EDTA, amostras hemolisadas ou lipémicas) eram

automaticamente excluídos do estudo. Animais que apresentassem, posteriormente, alterações no doseamento das hormonas da tiroide compatíveis com hipotireoidismo (tT_4 diminuída juntamente com TSH aumentada) eram igualmente excluídos do projeto.

Todos os animais analisados estavam registados no Livro de Origens Português (*LOP*) e identificados com microchip.

Assim, inicialmente, foram selecionados 99 canídeos aparentemente saudáveis da raça Cão de Água Português, com idades compreendidas entre os 6 meses e os 10 anos de idade, dos quais 63 eram fêmeas (44 inteiras e 19 esterilizadas) e 36 eram machos (31 inteiros e 5 castrados).

Tabela 3 - Critérios de inclusão e exclusão para a amostra em estudo

Critérios de Inclusão
<ul style="list-style-type: none">• Animal da raça Cão de Água Português registado;• Idade compreendida entre os 6 meses e os 10 anos de idade;• Jejum de 12h;• Realização do questionário por parte do tutor;• Termo de consentimento informado, que autorize a participação do animal no estudo, assinado pelo tutor;• Animal sem doenças prévias ou atuais relevantes;• Exame físico sem alterações assinaláveis e/ou manifestação de doença;• Ausência de administração de fármacos (incluindo glucocorticoides, AINES, anticonvulsivos, sulfonamidas potenciadas, ou outros) há pelo menos 1 mês;• Sem alterações significativas nas análises sanguíneas (hemograma e colesterol);• Doseamentos de tT_4 e TSH não compatíveis com hipotireoidismo.
Critérios de Exclusão
<ul style="list-style-type: none">• Animais com origem desconhecida ou duvidosa relativamente aos padrões da raça;• Animais com menos de 6 meses ou mais de 10 anos de idade;• Animal em cio ou gestante;• Animal lactante há menos de 50 dias;• Animal ao qual lhe tenha sido administrado qualquer fármaco das categorias acima mencionadas;• Animais com doença identificada quer através da anamnese, quer do exame físico ou pela interpretação do hemograma, bioquímica (colesterol) ou doseamento das hormonas da tiroide (tT_4 e TSH).

3.2 Colheita de sangue e análises sanguíneas

Recolheram-se amostras de sangue de cerca de 5mL, por venopunção da veia cefálica ou da veia safena, no período compreendido entre maio e julho de 2017. Cada amostra de sangue foi dividida por um tubo de EDTA de 1mL e por dois tubos secos de plástico de 2mL. Os tubos foram corretamente identificados e armazenados numa arca refrigeradora até serem

transportados para o laboratório de análises clínicas Dr. Braço Forte e para o laboratório de Endocrinologia e Reprodução da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

Os tubos de EDTA foram armazenados a 4°C. Todos os hemogramas foram realizados num prazo máximo de 12 a 24 horas após a colheita de sangue, no laboratório de análises clínicas Dr. Braço Forte através do aparelho *Cell-Dyn 3500 system* da *Abbott*.

Todos os tubos secos foram centrifugados a 700 g num prazo de 12 a 24 horas após a colheita de sangue. Os soros resultantes foram divididos em dois tubos *Eppendorfs* de 1,5mL, identificados e congelados a -24°C. Posteriormente, nas amostras descongeladas, foi analisado o colesterol (no laboratório de análise clínicas Dr. Braço Forte), através do aparelho *RXMonaco* da *Randox*, e foram quantificadas as concentrações de tT₄ e de TSH (no Laboratório de Endocrinologia e Reprodução).

3.2.1 Medição das concentrações de tT₄ e TSH

Os doseamentos das concentrações de tT₄ e de TSH foram realizados no Laboratório de Endocrinologia e Reprodução da FMV. As concentrações de tT₄ (*Canine total T₄, LKCT1*) e de TSH (*Canine TSH, LKKT1*) foram determinadas por kits comerciais de quimioluminescência imunométrica (*Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd, Llanberis, United Kingdom*), no aparelho IMMULITE ® 1000. Previamente foram realizadas curvas de calibração para cada kit, utilizando para o efeito ajustadores LOW e HIGH.

Para a determinação das concentrações de tT₄ e de TSH, utilizou-se 200µL de cada amostra. Os limites de quantificação para os testes de tT₄ e de TSH eram de 0,5 µg/dL e 0,03 ng/mL, respetivamente, pelo que a todos os valores inferiores aos limites referidos foi atribuído o valor igual ao limite de quantificação.

3.3 Análise estatística

Para a análise estatística dos dados e para a apresentação dos resultados foram utilizados dois programas: o Microsoft Office Excel ® 2016 e o programa de análise estatística R ®, (versão 3.4.1 de 2017).

Foi realizada uma análise descritiva, com obtenção de médias, desvios padrão, frequências, percentis 0% (mínimo), 25%, 97,5% e 100% (máximo) para as variáveis idade e concentrações de tT₄ e de TSH. Para a avaliação do número de animais inteiros e esterilizados de cada género, foi utilizado o teste de Fisher.

Dado que o pressuposto de normalidade não se observou, com a realização do teste de *Shapiro-Wilk*, foram utilizados testes não paramétricos para a caracterização das variáveis em estudo. A relação entre a concentração das hormonas da tiroide com o género e com a esterilização dos animais foi realizada através do teste de *Wilcoxon*. A correlação entre as

variáveis tT₄ e TSH e de cada uma delas com a idade, foi realizada através do teste de correlação de *Spearman*. A relação entre as concentrações das hormonas da tiroide e a localização geográfica dos animais e também com a hora em que foi feita a colheita de sangue, foi obtida através do teste ANOVA.

Os intervalos de referência foram calculados com base nas *guidelines* existentes para as espécies veterinárias (Friedrichs et al., 2012). Foi utilizado o teste de Horn's para a deteção e exclusão de *outliers* e posteriormente foram utilizados métodos robustos, com intervalo de confiança de 90%, para a obtenção dos intervalos de referência específicos de tT₄ e de TSH para o Cão de Água Português.

Apenas foram considerados valores de $p < 0,05$.

4. Resultados

4.1 Caracterização da amostra em estudo

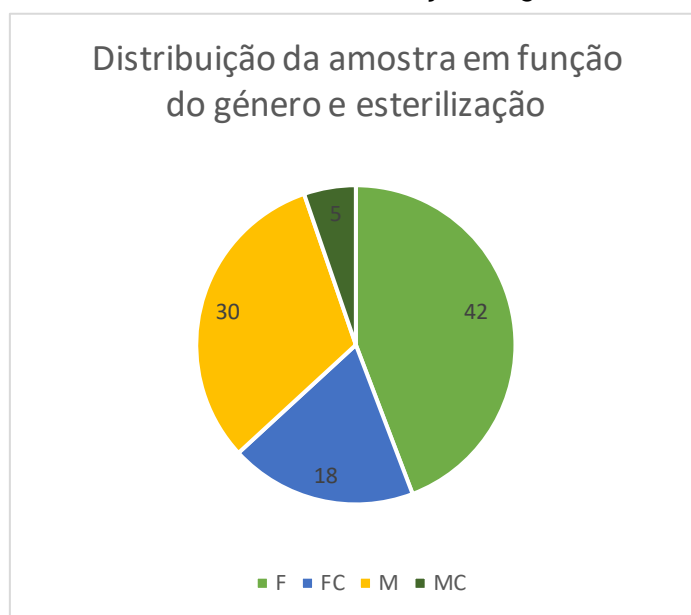
Dos 99 cães da raça Cão de Água Português aparentemente saudáveis, cuja seleção se baseou nos critérios de inclusão referidos anteriormente, 4 foram excluídos por demonstrarem alterações relevantes nas análises sanguíneas e/ou no doseamento hormonal de tT₄ e de TSH, como demonstrado na Tabela 4. Com base na história pregressa e nos achados analíticos, os animais referidos foram considerados como suspeitos de hipotireoidismo.

Tabela 4 – Caracterização dos animais excluídos do estudo e respetivos doseamentos hormonais (* TSH no limite máximo do intervalo de referência laboratorial)

Identificação do animal	Idade (anos)	Género	Outras alterações	Doseamentos hormonais
Animal nº40	2	M	Hipercolesterolemia	tT ₄ : 0,5 µg/dL (↓) TSH: 2,8 ng/mL (↑)
Animal nº43	10	F	Ligeira anemia (normocrômica e normocítica); Ligeira trombocitose; Pelo fino e baço	tT ₄ : 0,62 µg/dL (↓) TSH: 0,64 ng/mL (*)
Animal nº61	10	F	Ligeira anemia (normocrômica e normocítica); <i>facies tragis</i>	tT ₄ : 0,5 µg/dL (↓) TSH: 0,85 ng/mL (↑)
Animal nº62	7	F	-	tT ₄ : 1,2 µg/dL (↓) TSH: 1,0 ng/mL (↑)

Os restantes animais não demonstraram alterações significativas nas análises efetuadas (hemograma e bioquímica), nem no exame físico e história pregressa, que justificassem a sua exclusão do estudo, pelo que foram considerados “saudáveis”. Assim, o presente estudo, abrangeu uma amostra de 95 animais, 60 fêmeas (FR=63,16%), das quais 42 inteiras (FR=70,0%) e 18 esterilizadas (FR=30%), e 35 machos (FR=36,84%), dos quais 30 inteiros (FR=85,7%) e 5 castrados (FR=14,3%) (Gráfico 2), com um intervalo de idades dos 6 meses aos 10 anos e uma média de 4,21 ($\pm 3,00$) anos de idade.

Gráfico 2 - Distribuição da amostra em estudo em relação ao género e à esterilização dos animais



Legenda: F (Fêmea); FC (Fêmea Castrada); M (Macho); MC (Macho castrado).

4.2 Avaliação das concentrações de tT_4 e TSH

A análise da função da tiroide dos 95 animais incluídos no estudo revelou uma média de tT_4 de $1,64 \pm 0,47$ $\mu\text{g/dL}$ com um mínimo de 0,67 $\mu\text{g/dL}$ e um máximo de 3,2 $\mu\text{g/dL}$; e uma média de TSH de $0,17 \pm 0,24$ ng/mL com um mínimo de 0,03 ng/mL e um máximo de 1,6 ng/mL (Tabela 5).

Dos 95 animais verificou-se que, 18 (FR=18,95%) apresentaram concentrações de tT_4 diminuídas, ou seja, abaixo dos valores de referência laboratoriais e 3 animais (FR=3,16%) apresentaram concentrações de TSH aumentadas face aos valores laboratoriais de referência, sem nenhuma outra alteração significativa associada (Anexo 3).

Relativamente à correlação entre as hormonas tiroideias (tT_4 e TSH) verificou-se uma ligeira correlação negativa ($p = -0,032$) entre as variáveis.

4.2.1 Obtenção do intervalo de referência de tT_4 e TSH no Cão de Água Português

Como principal objetivo do estudo, obteve-se o intervalo de referência, quer para a tT_4 quer para a TSH, em Cão de Água Português, como demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5 - Valores de tT_4 e de TSH na amostra de 95 cães e respetivo intervalo de referência para a raça Cão de Água Português

Hormonas tiroideias	Média (Desvio Padrão)	Percentil					Intervalo de referência para o Cão de Água	Intervalo de referência laboratorial
		0%	25%	50%	75%	100%		
tT_4 ($\mu\text{g/dL}$)	1,64 ($\pm 0,47$)	0,67	1,30	1,50	1,95	3,2	0,8 – 2,4	1,3 – 2,9
TSH (ng/mL)	0,17 ($\pm 0,24$)	0,03	0,06	0,11	0,18	1,6	0,0 – 0,5	0,0 – 0,65

4.3 Relação dos resultados das hormonas tiroideias com a idade

Avaliou-se a relação entre as concentrações das hormonas da tiroide e a idade dos animais, tendo-se verificado uma ligeira correlação negativa ($p = -0,27$) entre a idade e os valores de tT_4 ($p = 0,009$) (Gráfico 3). No que respeita à TSH, verificou-se uma ligeira correlação positiva ($p = 0,37$) entre esta e a idade dos animais ($p = 0,0002$) (Gráfico 4).

Gráfico 3 – Variação da concentração de tT_4 ($\mu\text{g/dL}$) em relação à idade dos animais

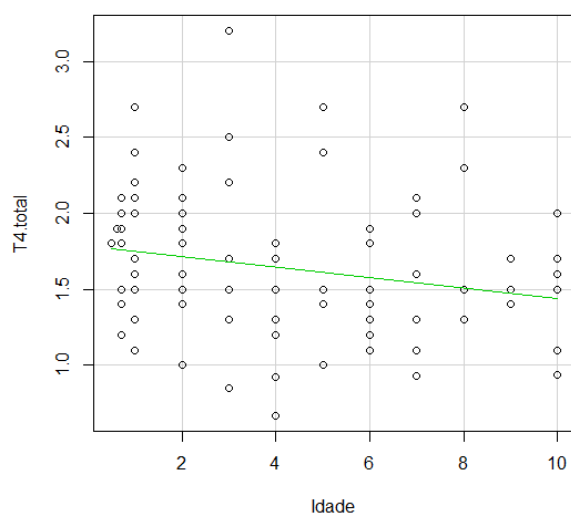
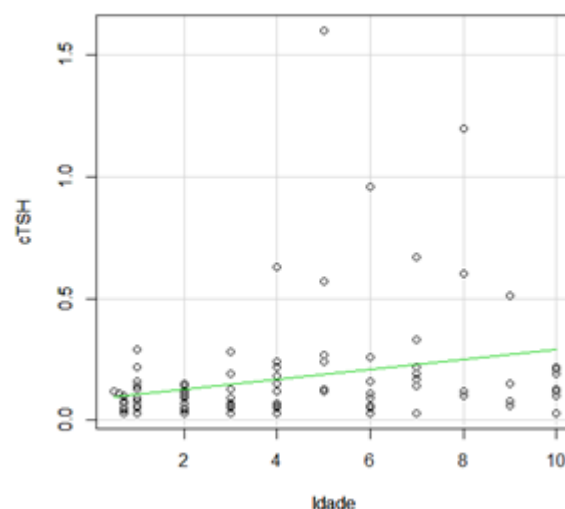


Gráfico 4 – Variação da concentração de TSH (ng/mL) em relação à idade dos animais



4.4 Relação dos resultados das hormonas tiroideias com o género

Avaliou-se a concentração das hormonas tiroideias em função do género do animal, não se tendo verificado diferenças significativas entre as concentrações de tT_4 ($p=0,44$) (Gráfico 5) e de TSH ($p=0,61$) (Gráfico 6) de acordo com o género do animal.

Gráfico 5 - Concentração de tT_4 ($\mu\text{g/dL}$) em função do género do animal

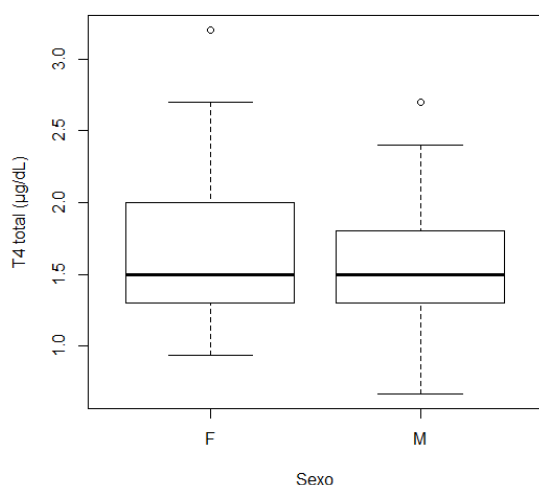
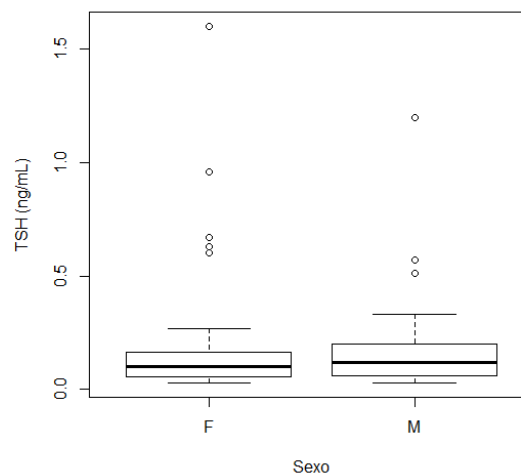


Gráfico 6 - Concentração de TSH (ng/mL) em função do género do animal



Legenda dos Diagramas de extremos e quartis (caixas-de-bigodes ou boxplots): as caixas representam a distribuição central das observações, delimitada pelo primeiro e terceiro quartis, e as barras centrais correspondem à mediana; as caudas da distribuição indicam os valores extremos; os círculos representam os outliers.

4.5 Relação dos resultados das hormonas tiroideias com a esterilização

Avaliou-se a concentração das hormonas tiroideias com o fato dos animais serem ou não esterilizados, não se tendo detetado alterações significativas para a tT_4 ($p=0,71$) (Gráfico 7), porém, no que se refere à TSH, verificou-se uma diferença significativa com o fato do animal ser ou não esterilizado ($p=0,03$) (Gráfico 8).

Gráfico 7 - Concentração de tT_4 ($\mu\text{g/dL}$) de acordo com o estado reprodutivo do animal

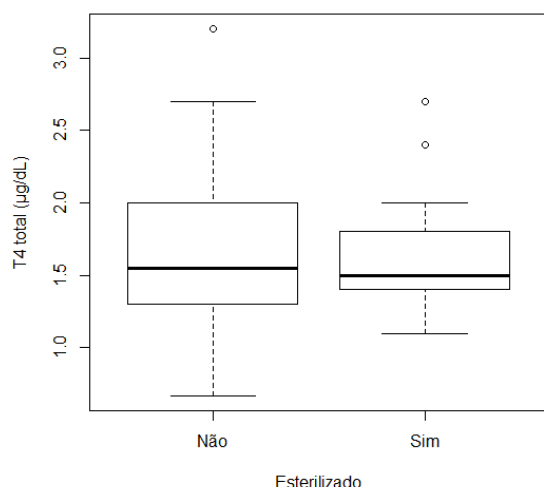
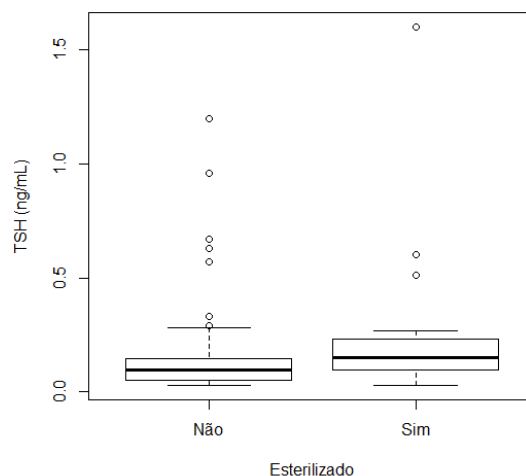


Gráfico 8 - Concentração de TSH (ng/mL) de acordo com o estado reprodutivo do animal



Legenda dos Diagramas de extremos e quartis (caixas-de-bigodes ou boxplots): as caixas representam a distribuição central das observações, delimitada pelo primeiro e terceiro quartis, e as barras centrais correspondem à mediana; as caudas da distribuição indicam os valores extremos; os círculos representam os outliers.

Os machos inteiros e castrados apresentaram uma média de tT_4 de $1,5 \mu\text{g/dL}$ e de $1,7 \mu\text{g/dL}$, respectivamente ($p=0,60$). Já as fêmeas inteiras possuíram uma média de tT_4 de $1,6 \mu\text{g/dL}$ e as fêmeas esterilizadas uma média de $1,5 \mu\text{g/dL}$ ($p=0,36$).

Para a TSH, as médias dos machos inteiros e castrados foram de $0,12 \text{ ng/mL}$ para ambos os grupos ($p=0,74$), e de $0,09 \text{ ng/mL}$ e $0,16 \text{ ng/mL}$ para as fêmeas inteiras e esterilizadas, respectivamente ($p=0,015$). Foi nas fêmeas que se detetaram diferenças significativas na concentração de TSH em relação ao fato de estas serem esterilizadas ou não, tendo sido a concentração de TSH superior nas cadelas esterilizadas.

4.6 Relação dos resultados das hormonas tiroideias com o período do dia em que foram realizadas as colheitas de sangue

Avaliou-se a concentração das hormonas tiroideias em relação à altura do dia em que foram realizadas as colheitas de sangue. Para isso dividiu-se o dia em quatro períodos: início da manhã (das 8h às 11h), fim da manhã (das 11h às 14h), início da tarde (das 14h às 17h) e fim da tarde (das 17h às 20h) não se tendo verificado diferenças significativas entre o período do dia em que foram realizadas essas colheitas e a concentração de tT_4 ($p=0,11$) ou de TSH ($p=0,46$).

4.7 Relação dos resultados das hormonas tiroideias com a distribuição geográfica dos animais

Avaliou-se a concentração das hormonas tiroideias em função da localização geográfica dos animais, tendo sido englobados três distritos: Lisboa, Setúbal e Faro. Porém, também não foram detetadas diferenças significativas no doseamento de tT_4 ($p=0,33$) e de TSH ($p=0,93$) nos diferentes distritos.

5. Discussão

Na presente dissertação, foi utilizada a combinação da medição de tT_4 e de TSH com o intuito de se obter um intervalo de referência para o Cão de Água Português, raça com predisposição para o hipotiroidismo. Os intervalos de referência obtidos para as hormonas da tiroide em cães da raça Cão de Água Português permitem afirmar a existência de valores fisiológicos diminuídos de tT_4 e de TSH para a raça em questão.

Como já referido, sabe-se que, algumas raças possuem concentrações fisiologicamente diminuídas de tT_4 , no entanto, o mesmo não se tem verificado para a TSH, não existindo evidências de que esta hormona seja afetada pela raça. Todavia, no presente estudo, verificou-se que os cães da raça Cão de Água Português, para além de valores fisiologicamente mais baixos de tT_4 , também possuem valores de TSH inferiores, no que se refere ao limite máximo do intervalo de referência específico, quando comparado com o limite máximo do intervalo de referência laboratorial. Estes achados, vêm novamente reforçar a necessidade da existência de intervalos de referência específicos para as diferentes raças caninas, principalmente naquelas com predisposição conhecida para determinadas doenças. O hipotiroidismo é uma das doenças endócrinas caninas mais comuns, particularmente em cães adultos, com uma prevalência de 0,2% a 0,8% (Dixon, Reid, & Mooney, 1999; Mooney, 2017). Neste estudo, 4 dos 99 animais foram considerados suspeitos de possuírem hipotiroidismo, o que pode reforçar a predisposição do Cão de Água Português para a doença.

5.1 Animais excluídos do estudo

Tendo em conta a história clínica, o exame físico e os resultados das análises sanguíneas (hemograma e colesterol) e dos doseamentos das hormonas da tiroide, 4 animais foram considerados suspeitos de possuírem hipotiroidismo (animal nº 40, nº 43, nº 61 e nº 62), tendo estes sido automaticamente excluídos do estudo.

A fêmea nº 61 era a única que apresentava, ao exame físico, um ligeiro sinal compatível com hipotiroidismo (*facies tragis*) nunca valorizado pelo seu tutor. A *facies tragis* deve-se à acumulação de mucopolissacáridos e de ácido hialurónico na pele (com chamada de água à derme), que ocorre devido a um desequilíbrio entre a sua produção e degradação, processos estes controlados pelas hormonas da tiroide. Alteração esta que resulta no espessamento da

pele, sem sinal de *godet*, mais pronunciado na zona da face, com espessamento dos lábios, da pele da fronte e abatimento das pálpebras (Muller & Kirk's, 2013), dando ao animal um aspeto triste. Para além da *facies trágis*, este animal apresentou também uma ligeira anemia normocrômica e normocítica, no hemograma. Esta anemia normocítica e normocrômica, não regenerativa, geralmente não é detetada ao exame físico e está presente em 32 a 44% dos animais com hipotiroidismo. Estes achados aliados à diminuição da concentração de tT_4 e ao aumento da concentração de TSH, tornam o animal suspeito de hipotiroidismo.

A fêmea nº 62 não possuía nenhuma evidência que nos levasse a excluí-la do estudo, a não ser as alterações encontradas nos doseamentos das hormonas da tiroide. Todavia, não pode ser excluída a hipótese de ser hipotiroideia. Isto porque, apesar de Dixon (2004) afirmar que devemos ter em conta que o diagnóstico de hipotiroidismo é um diagnóstico clínico, não nos devendo basear exclusivamente nos testes laboratoriais como meio de diagnóstico, nada nos garante que este animal não possuía sinais clínicos da doença. Além do mais, sabe-se que no caso de cães de criadores (maior parte dos animais da amostra), nem sempre é fácil, por parte destes, detetar alterações nos seus animais, devido ao elevado número de cães que possuem e, sendo o hipotiroidismo uma doença de início insidioso e sem características patognomónicas (doença cujos sinais são vagos e inespecíficos) (Mooney, 2017) esta tarefa torna-se ainda mais difícil.

Somente o macho nº 40 apresentava aumento da concentração de colesterol (hipercolesterolemia), uma das principais alterações descritas em cães hipotiroideus, afetando cerca de 75% dos animais com a doença. Sabe-se que a deficiência em hormonas da tiroide, é responsável pela diminuição da síntese e degradação dos lípidos, com sua consequente acumulação no plasma sanguíneo (Scott-Moncrieff, 2015). Este achado, aliado ao decréscimo da concentração de tT_4 e ao aumento da concentração de TSH, torna este animal também suspeito de hipotiroidismo. O animal nº 43 também foi excluído do estudo, dado que, na anamnese, o seu tutor referiu a presença de uma pelagem mais fina e mais baça do que o normal e no hemograma esta cadela apresentava uma ligeira anemia normocrômica e normocítica. Na literatura, está descrito que a diminuição dos ácidos gordos e das prostaglandinas E2, assim como a atrofia das glândulas sebáceas, verificadas em cães com hipotiroidismo, são responsáveis pelo aparecimento de uma pelagem seca e sem brilho (Campbell & Davis, 1990; Muller & Kirk's, 2013; Scott-Moncrieff, 2015), o que poderia corresponder à história deste animal. Além disto, verificou-se uma diminuição da concentração de tT_4 e, apesar da concentração de TSH não se encontrar acima do intervalo de referência laboratorial, encontrava-se no seu limite superior. Além do mais, se neste caso se se aplicar o intervalo específico obtido para o Cão de Água Português, nota-se que a concentração de TSH passa a estar aumentada, ou seja, acima do limite máximo do intervalo estabelecido para a raça, o que nos leva a suspeitar ainda mais de hipotiroidismo.

É ainda importante referir que, no que toca à idade, a concentração de tT_4 tende a diminuir progressivamente ao longo dos anos, podendo mesmo estar abaixo do intervalo de referência em cães idosos (Reimers, Lawler, Sutaria, Correa, & Erb, 1990) e que, cães mais velhos têm concentrações médias de TSH mais altas do que cachorros mais jovens (Bhatti et al., 2006), tal como verificado neste trabalho. Estas informações levam-nos a questionar se animais velhos, com tT_4 diminuída e TSH aumentada terão mesmo hipotireoidismo, ou se serão eutirodeus (falsos positivos), o que poderia ter contribuído para a presença de falsos positivos no que se refere aos animais nº 43 e nº 61, se avaliássemos exclusivamente os doseamentos hormonais, uma vez que, estes são considerados animais velhos (10 anos) e apresentaram concentrações baixas de tT_4 e concentrações elevadas de TSH.

Tendo em conta todos estes fatores, preferimos, mesmo que por excesso de zelo, eliminar estes animais da nossa amostra, de modo a obtermos um intervalo de referência para as hormonas em estudo, o mais correto possível. Nos animais excluídos do estudo, idealmente, deveríamos ter repetido as análises sanguíneas (hemograma e colesterol) e os doseamentos hormonais (tT_4 e TSH) e, eventualmente, ter realizado o doseamento da IT_4 por diálise de equilíbrio e a medição dos autoanticorpos contra a tiroglobulina (TgAAs), como métodos de 2ª linha no diagnóstico de hipotireoidismo. No entanto, devido ao fato do estudo ter sido fixo no tempo, tal não foi possível. É, no entanto, do nosso interesse o posterior seguimento destes animais, de modo a confirmar ou não a presença de hipotireoidismo.

5.2 Caracterização da amostra populacional

Os procedimentos associados à seleção dos indivíduos de referência utilizados para a obtenção dos intervalos de referência específicos, bem como a colheita, processamento, armazenamento e análise das amostras foram realizados de forma padronizada de modo a minimizar erros pré-analíticos e analíticos. À exceção dos 4 animais excluídos acima mencionados, os restantes 95 foram considerados eutirodeus e utilizados para a obtenção dos intervalos de referência para a raça.

Tendo em conta os intervalos de referência obtidos para as hormonas da tiroide em cães da raça Cão de Água Português, cujos valores foram de 0,8 - 2,4 $\mu\text{g/dL}$ para a tT_4 (intervalo de referência laboratorial 1,3 - 2,9 $\mu\text{g/dL}$) e de 0,0 - 0,5 ng/mL para a TSH (intervalo de referência laboratorial 0,0 - 0,65 ng/mL), é possível afirmar a existência de valores fisiológicos diminuídos de tT_4 e de TSH em cães desta raça. Este achado demonstra que, os intervalos de referência calculados para uma dada população geral (intervalos de referência não específicos), não se adequam aos animais pertencentes à raça Cão de Água Português. Informação esta que, mais uma vez, vem reforçar a importância da existência de intervalos de referência específicos para as raças, uma vez que, RIs inadequados podem induzir a um diagnóstico equívoco de hipotireoidismo e à possibilidade dos animais serem erradamente suplementados com

terapêutica hormonal ou de serem excluídos dos programas de reprodução, caso não sejam realizados mais testes de diagnóstico.

Assim, à semelhança de outras raças, propõe-se a criação de intervalos de referência específicos para o Cão de Água Português.

A correta interpretação dos doseamentos hormonais da glândula tiroide e da hipófise (TSH endógena), são um dos principais desafios diagnósticos na endocrinologia canina. Existem muitos fatores que podem influenciar as concentrações basais das hormonas da tiroide e as concentrações endógenas de TSH, incluindo a idade, a raça, o tamanho corporal, as flutuações diurnas, os treinos intensos, o género do animal, o estado reprodutivo, a presença de doenças concomitantes e a administração de determinados fármacos (Scott-Moncrieff, 2015). Como muitos destes fatores diminuem as concentrações iniciais das hormonas da tiroide e alguns podem mesmo aumentar concomitantemente a TSH endógena, em cães eutiroideus, a sua presença deve ser sempre considerada de modo a não se sobrevalorizar a doença. Embora todos os animais da amostra cumprissem os critérios de inclusão estabelecidos, não devemos excluir a possibilidade da presença de alguns dos fatores mencionados, que possam ter influenciado a concentração das hormonas da tiroide (por exemplo, ocultação de algumas informações por parte dos tutores dos animais).

A partir dos animais selecionados, verificou-se que 18 (18,95%) apresentavam concentrações de tT_4 diminuídas, sem, no entanto, apresentarem outras alterações significativas que nos fizessem suspeitar de hipotireoidismo ou de outra afeção, e que nos levassem, conseqüentemente, à sua exclusão do estudo. Assim, apesar destes animais terem apresentado concentrações de tT_4 diminuídas, foram considerados eutiroideus, o que pode evidenciar uma alteração fisiológica própria da raça em questão. A diminuição fisiológica da concentração de tT_4 já foi descrita noutras raças, sendo o exemplo mais clássico os cães pertencentes à família dos galgos, em que animais saudáveis possuem valores de tT_4 inferiores aos intervalos de referência (Zaldívar-López et al., 2011). De acordo com vários estudos, encontram-se descritos valores de tT_4 abaixo do intervalo de referência em *Basenjis*, *Sloughis*, *Salukis*, *Whippets* e *Scottish Deerhounds* (Panakova, Koch, Kolb, & Mueller, 2008; Seavers, Snow, Mason, & Malik, 2008; Sheerer et al., 2013; Shiel et al., 2007; Shiel, Sist, Nachreiner, Ehrlich, & Mooney, 2010; van Geffen, Bavegems, Duchateau, De Roover, & Daminet, 2006), e ainda em *Dogue de Bordéus*, em *Schnauzer Gigante* (Lavoué et al., 2013) e em cães Rafeiro do Alentejo (Tabanez, 2012).

Vários fármacos são capazes de afetar os resultados dos testes endócrinos da tiroide e levar a uma avaliação errada da sua função. Estas substâncias podem alterar a síntese, a secreção, o transporte ou o metabolismo das hormonas da tiroide e, alguns, podem mesmo afetar diretamente o eixo hipotálamo-hipófise-tiroide (Daminet & Ferguson, 2003). Os animais incluídos no presente estudo não tinham história de medicações ou suplementações, pelo que

é pouco provável que este tenha sido um fator a influenciar as concentrações de tT_4 ou de TSH.

Inúmeras doenças, que envolvem vários sistemas orgânicos, também têm sido associadas à diminuição das hormonas da tiroide (Mooney, 2017). Porém, de modo a eliminar a interferência deste fator na concentração das hormonas da tiroide, foi realizada uma anamnese cuidada, um exame físico completo e análises sanguíneas, de modo a aferir sobre o estado de saúde dos animais. Além disso, sabe-se que nas NTI menos complicadas (que podiam ter passado despercebidas ao exame físico e nas análises sanguíneas), não são expectáveis alterações na concentração das hormonas da tiroide, ou o impacto na função tiroideia é mínimo (Kantrowitz et al., 2001), pelo que é pouco provável que os animais (eutiroideos) com concentrações diminuídas de tT_4 sofressem de algum tipo de afeção.

Existem outros fatores biológicos capazes de afetar a concentração das hormonas da tiroide. Sabe-se que, raças médias a grandes têm tendência a possuir concentrações de tT_4 inferiores às raças pequenas (Mooney & Shield, 2012). Embora nesta raça tenham sido identificadas concentrações médias de tT_4 de $1,64 \pm 0,47 \mu\text{g/dL}$, que estão dentro dos intervalos de referência laboratoriais ($1,3 - 2,9 \mu\text{g/dL}$), os cães da raça Cão de Água Português são considerados cães de raça média, atingindo pesos na ordem dos 19 a 25kg nos machos e de 16 a 22kg nas fêmeas (CPC, 2008), fator este que também pode justificar a presença de valores fisiologicamente inferiores das hormonas tiroideias nesta raça.

A idade do animal é um fator capaz de influenciar a concentração de tT_4 e de TSH, apesar de não se saber ao certo o mecanismo que está na sua origem. No presente trabalho, que utilizou uma população com idades compreendidas entre os 6 meses e os 10 anos de idade, verificou-se uma diminuição estatisticamente significativa da concentração de tT_4 com o aumento da idade, o que reforça os estudos pré-existentes. Estes referem que a concentração de tT_4 tende a diminuir com a idade, podendo mesmo estar abaixo do intervalo de referência em cães velhos. Contrariamente, animais com menos de 3 meses de idade, podem ter concentrações de tT_4 duas a cinco vezes superiores aos adultos (Mooney, 2017; Reimers, Lawler, Sutaria, Correa, & Erb, 1990). No que respeita à concentração de TSH verificou-se um aumento estatisticamente significativo da sua concentração com o aumento da idade, tal como já tinha sido referido num estudo, em que, cães mais velhos têm concentrações médias de TSH mais altas do que cachorros mais jovens (Bhatti et al., 2006).

O género e a fase do estro têm sido reportados como fatores que podem afetar a concentração das hormonas da tiroide. Neste estudo não foram detetadas diferenças significativas na concentração das hormonas tiroideias (tT_4 e TSH) em função do género do animal, tal como relatado por Dixon et al (1999). No entanto, detetou-se uma diferença significativa na concentração de TSH com o fato do animal ser esterilizado. Esta diferença foi detetada mais concretamente nas fêmeas, sendo que, fêmeas esterilizadas possuíam concentrações de

TSH superiores às fêmeas inteiras. Já um estudo de Panciera (1994b) apontava que fêmeas esterilizadas possuíam maior risco de desenvolver hipotireoidismo.

Existe um estudo que afirma a existência de flutuações na concentração de tT_4 em animais saudáveis, ocorrendo períodos do dia em que essas concentrações basais são inferiores e outros períodos do dia em que são superiores (Hoh & Oh, 2006; Mooney & Shield, 2012). Porém, não está identificado um ritmo circadiano para a secreção hormonal da tiroide, o que leva a crer que a altura do dia em que é realizada a colheita de sangue, não tem influência na medição das concentrações das hormonas tiroideias (Hoh & Oh, 2006; Kemppainen & Sartin, 1984). Neste estudo experimental, de modo a verificar a veracidade destas afirmações, procedeu-se à subdivisão do dia em quatro períodos (início da manhã, fim da manhã, início da tarde e fim da tarde), não se tendo verificado diferenças significativas na concentração de tT_4 e de TSH entre os diferentes períodos do dia em que foram realizadas as colheitas de sangue. Esta evidência, vem reforçar os estudos subsequentes, ou seja, reforça a ideia da ausência de um ritmo circadiano para a secreção hormonal da tiroide.

Outros fatores, como a estação do ano e a localização geográfica, parecem contribuir, ainda que em pequena escala e através de mecanismos desconhecidos, para a ocorrência de evidências precoces de tiroidite linfocítica, principalmente no verão (Graham et al., 2007). No entanto, no presente trabalho, não se verificaram alterações significativas na concentração de tT_4 nem na concentração de TSH, em função da localização geográfica dos animais, distribuídos pelos três distritos abrangidos pelo estudo (Lisboa, Setúbal e Faro). Segundo um estudo, que teve como objetivo comparar a influência da estação do ano sobre a tiroide em diferentes raças de animais saudáveis, consoante o seu peso corporal, conclui-se que a concentração de tT_4 e de lT_4 no soro, possui flutuações em todos os grupos de animais, quer de interior quer de exterior (mais acentuada neste último grupo), dependendo diretamente da temperatura ambiente. Além disto, segundo este mesmo estudo, não foram encontradas flutuações significativas nos valores de TSH, exceto nos cães de raças médias que vivem no exterior (valores de TSH no limite máximo do intervalo de referência) (Fialkovičová et al., 2012). Porém, devido ao fato do presente estudo ter sido fixo no tempo, e das amostras de sangue terem sido colhidas no mesmo período do ano (entre maio e julho), não foi possível tirar conclusões no que se refere à influência que a estação do ano (e a temperatura ambiente) podem ter na concentração das hormonas da tiroide. Todavia, seria interessante avaliar se este fator tem efetivamente influencia nos parâmetros da tiroide.

Para além dos fatores que levam à diminuição das concentrações de tT_4 , existem alguns fatores que podem levar a um aumento, ainda que aparente, destas concentrações, como é o caso da obesidade e da presença de anticorpos anti hormonas da tiroide (nomeadamente T_4 AAs). Sabe-se que animais obesos geralmente possuem valores de tT_4 superiores a animais de condição corporal normal da mesma raça (Mooney & Shield, 2012). Contudo, no

presente estudo, não foi possível avaliar objetivamente a nutrição e a condição corporal dos animais, apesar de ao exame físico nenhum dos cães parecer apresentar diminuição ou excesso de peso para a raça.

Apesar de algumas raças possuírem concentrações diminuídas de tT_4 , o mesmo não se tem verificado para a TSH, não existindo evidências de que a TSH é afetada pela raça (Mooney, 2017), ainda assim, no presente estudo, verificou-se que os cães da raça Cão de Água Português possuem, para a TSH, valores inferiores para o limite máximo do intervalo de referência específico comparando com o intervalo de referência laboratorial. Isto pode levar a que animais com hipotireoidismo sejam erradamente classificados como eutiroídeos. Assim sendo, ao contrário do verificado para a tT_4 , em que há uma sobrevalorização da doença, no que se refere à TSH pode ocorrer exatamente o oposto, ou seja uma subvalorização da doença, se não forem realizados mais testes de diagnóstico, ou se não se tiverem em conta os intervalos específicos para a raça.

Convém ainda referir que se verificou-se um aumento da concentração de TSH em 3 animais (3,16%), sem outra alteração associada. Estes animais foram considerados eutiroídeos, uma vez que, o doseamento da concentração de TSH por si só, não é diagnóstico de hipotireoidismo e, além disso, estes animais não aparentavam ter outra doença não tiroideia, nem estavam a fazer qualquer tipo de medicação (por exemplo sulfonamidas potenciadas), fatores estes que podem contribuir para a elevação da concentração de TSH (Mooney & Shield, 2012). A secreção pulsátil de TSH também se encontra descrita, apesar desta flutuação não se ter verificado em animais eutiroídeos (Kooistra, Diaz-Espineira, et al., 2000; Mooney & Shield, 2012), pelo que este fator provavelmente não afetaria a concentração da TSH nestes animais. A presença de valores de TSH aumentados em cães eutiroídeos, pode ocorrer numa fase inicial de hipotireoidismo. Nesta fase, e durante algum tempo, a TSH pode estar aumentada antes do aparecimento de sinais clínicos ou sem que tenha havido ainda diminuição dos valores de tT_4 (Mooney & Shield, 2012). Assim, nestes 3 animais, e de modo a excluir a possível presença da doença, ainda que em fase subclínica, seria aconselhado a repetição das análises sanguíneas e do doseamento hormonal. Estes animais foram incluídos na amostra que serviu de base à obtenção dos intervalos de referência específicos para o Cão de Água, devido às razões mencionadas acima, porém, se se excluísse estes animais com TSH aumentada, o limite máximo do intervalo de referência específico de TSH para o Cão de Água Português, já inferior ao intervalo de referência laboratorial, ainda seria mais baixo, pelo que não alteraria as conclusões do estudo.

Os exames laboratoriais são reconhecidos como importantes meios de diagnóstico na prática clínica do médico veterinário, no entanto, como se verificou para o Cão de Água Português, a sua interpretação deve ser cuidada e os valores analíticos obtidos de indivíduos ou de grupos

de animais devem ser analisados com base em intervalos de referência calculados para raça em questão.

5.3 Limitações do estudo

Neste estudo não foram identificados problemas relacionados com a qualidade das amostras, nem com o seu armazenamento e processamento. Além disso, e apesar de não se ter identificado em nenhuma das amostras, sabe-se que, por norma, tanto a hemólise como a lipémia não afetam as concentrações de tT_4 nem de TSH (Scott-Moncrieff, 2015). No entanto, fatores como erros do operador ou das próprias máquinas não podem ser descartados.

Em muitos casos, as concentrações hormonais podem ser tão baixas que se encontram no limite ou abaixo do limiar de deteção do método utilizado, tornando impossível calcular um intervalo específico para a raça, todavia, neste estudo este fator não impediu que os intervalos de referência fossem calculados, e além disso a amostra em estudo foi bastante representativa do número total de animais registados no Clube Português de Canicultura no ano de 2016 (população alvo de 99 animais face aos 254 animais registados) (CPC, 2016). Idealmente, nos animais suspeitos de hipotireoidismo e mesmo naqueles com tT_4 baixa ou TSH aumentada, teria sido importante repetir-se os doseamentos hormonais e as análises sanguíneas (hemograma e colesterol) e, como 2ª linha de diagnóstico, ter-se feito o doseamento da IT_4 por diálise de equilíbrio e a medição dos autoanticorpos anti-tiroglobulina (TgAAs). Contudo, devido ao fato do estudo ter sido fixo no tempo, tal não foi possível, sendo, no entanto, nossa intenção fazer o posterior seguimento dos animais.

Para a obtenção dos intervalos de referência específicos para o Cão de Água Português, talvez tivesse sido mais prudente não incluir os 3 animais com TSH aumentada. Apesar destes animais se apresentarem clinicamente saudáveis e de não possuírem mais alterações ao nível das análises sanguíneas, existe a possibilidade de estarem numa fase inicial de hipotireoidismo e virem a desenvolver sintomatologia da doença mais tarde. No entanto, tal como já referido, a sua exclusão não iria alterar em muito as conclusões obtidas para os intervalos de referência específicos, uma vez que, os intervalos de referência para a TSH nesta raça já se encontravam abaixo do intervalo de referência laboratorial.

CAPÍTULO V - CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

A maioria dos laboratórios de endocrinologia, utilizam intervalos de referência não específicos para as raças, na interpretação das concentrações das hormonas tiroideias o que, aliado a uma dificuldade diagnóstica, devido à presença de vários fatores que alteram estas concentrações hormonais (idade, tamanho do animal, condição corporal, tipo de atividade, doenças concomitantes, fármacos, gravidez, aleitamento, entre outros) torna o diagnóstico de hipotireoidismo ainda mais difícil. Além disso é cada vez mais flagrante que, determinadas raças possuem valores analíticos que podem diferir significativamente dos intervalos de referência não específicos, surgindo assim a necessidade de determinar os intervalos de referência específicos para essas mesmas raças, de modo a caracterizar e identificar corretamente eventuais doenças.

No Cão de Água Português, à semelhança de outras raças, foram identificados valores fisiológicos diminuídos de tT_4 e, contrariamente ao que tem sido reportado, também intervalos fisiológicos diminuídos de TSH, tendo-se obtido os seguintes intervalos específicos para as hormonas tiroideias:

- T_4 total: 0,8 - 2,4 $\mu\text{g/dL}$ (intervalo de referência laboratorial 1,3 - 2,9 $\mu\text{g/dL}$);
- TSH: 0,0 - 0,5 ng/mL (intervalo de referência laboratorial 0,0 - 0,65 ng/mL).

Estes intervalos de referência, vêm mais uma vez demonstrar a importância da adaptação dos parâmetros laboratoriais às várias raças de cães, de modo a que não sejam nem subvalorizadas nem sobrevalorizadas determinadas doenças.

Concomitantemente à obtenção dos intervalos de referência específicos para a raça, foi possível comprovar que, fatores como a idade e a esterilização dos animais podem afetar a concentração das hormonas da tiroide.

Além disso, o presente trabalho permitiu ainda a criação de uma soroteca, amostras congeladas de soro de Cão de Água Português, o que pode vir a permitir que mais estudos sejam feitos nesta raça nacional.

Com o decorrer da presente investigação algumas questões ficaram ainda por responder, sugerindo-se como possíveis perspetivas futuras:

- A realização de mais estudos e maior investigação tanto em raças autóctones como noutras raças de modo a, não só identificar os fatores que possam levar a alterações nos valores laboratoriais, como caracterizar os intervalos laboratoriais específicos para as diferentes raças. Os estudos em raças autóctones permitem um melhor conhecimento científico das “nossas” raças, contribuindo desta forma para o seu desenvolvimento e criação. Até ao momento, apenas se tem conhecimento do trabalho realizado em cães da raça Rafeiro do Alentejo, e no qual também se

verificaram valores hormonais da tiroide inferiores aos intervalos laboratoriais de referência (Tabanez, 2012);

- A realização de estudos semelhantes tendo em conta as variedades existentes dentro da própria raça do Cão de Água Português (averiguar se existem diferenças significativas entre cães de pelagem preta, castanha e/ou branca), e em cães desta raça de outros países, o que poderá permitir avaliar como é que a pressão de seleção e a localização geográfica dos animais contribuem para a variabilidade existente mesmo dentro da própria raça. Isto porque segundo Vasconcelos (1993) os cães americanos são, atualmente, bastante diferentes dos existentes em Portugal.
- A realização de estudos para avaliar se existirão diferenças nas concentrações das hormonas da tiroide em animais de trabalho face aos outros animais, pois sabe-se que o exercício físico e o treino intenso estão associados a diminuições nas concentrações das hormonas da tiroide. Todavia, treinos regulares possuem pouco efeito nestas concentrações (Evason, Carr, Taylor, & Waldner, 2004; Krogh, Legind, Kjelgaard-Hansen, Bochsén, & Kristensen, 2014; Lee, Hinchcliff, Piercy, Schmidt, & Nelson Jr, 2004; Panciera, Hinchcliff, Olson, & Constable, 2003; van Geffen *et al.*, 2006), e alguns animais desta raça são utilizados como animais de trabalho, nomeadamente em provas de mergulho e salvamento em água (mais no Algarve);
- Avaliação dos valores de tT_3 em cães da raça Cão de Água Português saudáveis e em cães da mesma raça com hipotireoidismo, uma vez que, apesar destes animais terem concentrações fisiológicas mais baixas de tT_4 , poderão não ter de tT_3 tal como se verifica para os galgos. Nestes últimos, sabe-se que, os seus valores fisiológicos de tT_3 se mantêm dentro do intervalo de referência, pelo que um valor baixo na tT_3 pode ser indicativo de hipotireoidismo (Shiel et al., 2007).
- Avaliar se, à semelhança do Homem, animais com TSH aumentada (exclusivamente) vêm a desenvolver hipotireoidismo, correspondendo esta elevação da TSH a uma fase inicial da doença.

BIBLIOGRAFIA

- Acredite ou não (2016). Curiosidades sobre as diferentes etnias humanas (figura). Acedido em Set. 15, 2017, disponível em: <https://acrediteounao.com/curiosidades-sobre-etnias-humanas/>
- Animalia life (2017). *Portuguese Water Dog – Dog Breed*. Acedido em Jan. 20, 2017, disponível em: <http://animalia-life.club/portuguese-water-dog.html>
- Atkinson, K., & Aubert, I. (2004). Myxedema coma leading to respiratory depression in a dog. *Canadian Veterinary Journal*, 45 (4), 318–320.
- Avgeris, S., Lothrop Jr, C.D. & McDonald, T.P. (1990). Plasma von Willebrand factor concentration and thyroid function in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196 (6), 921–4.
- Barrie, J., Watson, T.D.G., Stear, M.J. & Nash, A.S. (1993). Plasma cholesterol and lipoprotein concentrations in the dog: The effects of age, breed, gender and endocrine disease. *Journal of Small Animal Practice*, 34 (10), 507–512.
- Beier, P., Reese, S., Holler, P.J., Simak, J., Tater, G. & Wess, G. (2015). The role of hypothyroidism in the etiology and progression of dilated cardiomyopathy in doberman pinschers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29 (1), 141–149.
- Benjamin, S.A., Stephens, L.C., Hamilton, B.F., Saunders, W.J., Lee, A.C., Angleton, G.M. & Mallinckrodt, C.H. (1996). Associations between lymphocytic thyroiditis, hypothyroidism, and thyroid neoplasia in beagles. *Veterinary Pathology*, 33 (5), 486–494.
- Betterle, C. & Zanchetta, R. (2003). Update on autoimmune polyendocrine syndromes (APS). *Acta Bio-Medica*, 74(1), 9–33.
- Bhatti, S.F., Duchateau, L., Van Ham, L.M., De Vliegher, S., Mol, J., Rijnberk, A. & Kooistra, H. (2006). Effects of growth hormone secretagogues on the release of adenohipophyseal hormones in young and old healthy dogs. *The Veterinary Journal*, 172, 515–525.
- Blois, S.L., Dickie, E., Kruth, S.A. & Allen, D.G. (2011). Multiple endocrine diseases in dogs: 35 cases (1996-2009). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238 (12), 1616–1621.
- Blois, S.L., Poma, R., Stalker, M.J., & Allen, D.G. (2008). A case of primary hypothyroidism causing central nervous system atherosclerosis in a dog. *Canadian Veterinary Journal*, 49 (8), 789–792.
- Boretti, F.S., Sieber-Ruckstuhl, N.S., Favrot, C., Lutz, H., Hofmann-Lehmann, R. & Reusch, C.E. (2006a). Evaluation of recombinant human thyroid-stimulating hormone to test thyroid function in dogs suspected of having hypothyroidism. *American Journal of Veterinary Research*, 67 (12), 2012–2016.
- Boretti, F.S., Sieber-Ruckstuhl, N.S., Willi, B., Lutz, H., Hofmann-Lehmann, R. & Reusch, C.E. (2006b). Comparison of the biological activity of recombinant human thyroid-stimulating hormone with bovine thyroid-stimulating hormone and evaluation of recombinant human thyroid-stimulating hormone in healthy dogs. *AJVR*, 67 (7), 1169–1172.
- Boretti, F.S., Sieber-Ruckstuhl, N.S., Wenger-Riggenbach, B., Gerber, B., Lutz, H., Hofmann-Lehmann, R. & Reusch, C.E. (2009). Comparison of 2 doses of recombinant human

- thyrotropin for thyroid function testing in healthy and suspected hypothyroid dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23 (4), 856–861.
- Boucai, L., Hollowell, J.G. & Surks, M.I. (2011). An Approach for Development of Age, Gender, and Ethnicity-Specific Thyrotropin Reference Limits. *Thyroid*, 21 (1), 5–11.
- Brauer, C., Jambroszyk, M. & Tipold, A. (2011). Metabolic and toxic causes of canine seizure disorders: A retrospective study of 96 cases. *The Veterinary Journal*, 187 (2), 272–275.
- Brenner, K., Harkin, K., & Schermerhorn, T. (2009). Iatrogenic, sulfonamide-induced hypothyroid crisis in a Labrador Retriever. *Australian Veterinary Journal*, 87 (12), 503–505.
- Brömel, C., Pollard, R.E., Kass, P.H., Samii, V.E., Davidson, A.P. & Nelson, R.W. (2006). Comparison of ultrasonographic characteristics of the thyroid gland in healthy small, medium, and large-breed dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 67 (1), 70–77.
- Brömel, C., Pollard, R.E., Kass, P.H., Samii, V.E., Davidson, A.P. & Nelson, R.W. (2005). Ultrasonographic evaluation of the thyroid gland in healthy, hypothyroid, and euthyroid Golden Retrievers with nonthyroidal illness. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 19 (4), 499–506.
- Bruchim, Y., Kushnir, A. & Shamir, M.H. (2005). L-thyroxine responsive cricopharyngeal achalasia associated with hypothyroidism in a dog. *Journal of Small Animal Practice*, 46 (11), 553–554.
- Burek, C.L. & Talor, M.V. (2009). Environmental triggers of autoimmune thyroiditis. *Journal of Autoimmunity*, 33 (3–4), 183–189.
- Calvert, C.A., Jacobs, G.J., Medleau, L., Pickus, C.W., Brown, J. & McDermott, M. (1998). Thyroid-stimulating hormone stimulation tests in cardiomyopathic Doberman pinschers: a retrospective study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12 (5), 343–348.
- Campbell, K.L. & Davis, C.A. (1990). Effects of thyroid hormones on serum and cutaneous fatty acid concentrations in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 51 (5), 752–6.
- Carter, G.R., Scott-Moncrieff, J.C., Luescher, A.U. & Moore, G. (2009). Serum total thyroxine and thyroid stimulating hormone concentrations in dogs with behavior problems. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, 4 (6), 230–236.
- Castillo, V.A., Lalia, J.C., Junco, M., Sartorio, G., Marquez, A., Rodriguez, M.S. & Pisarev, M.A. (2001). Changes in thyroid function in puppies fed a high iodine commercial diet. *Veterinary Journal*, 161 (1), 80–84.
- Chow, B. & French, A. (2014). Conversion of atrial fibrillation after levothyroxine in a dog with hypothyroidism and arterial thromboembolism. *Journal of Small Animal Practice*, 55 (5), 278–282.
- Conaway, D.H., Padgett, G.A. & Nachreiner, R.F. (1985). The familial occurrence of lymphocytic thyroiditis in borzoi dogs. *American Journal of Medical Genetics*, 22 (2), 409–14.
- Cortese, L., Oliva, G., Verstegen, J., Ciaramella, P. & Persechino, A. (1997). Hyperprolactinaemia and galactorrhoea associated with primary hypothyroidism in a bitch. *The Journal of Small Animal Practice*, 38 (12), 572–5.

- Clube Português de Canicultura [CPC] (2008). Cão de Água Português. Acedido em Jan. 20, 2017, disponível em: http://racas.cpc.pt/1/aguaportugues_pt.html.
- Clube Português de Canicultura [CPC] (2015). Registos individuais por raça. Acedido em Jan. 5, 2017, disponível em: <http://www.cpc.pt/registos/estatisticas/registos2015.pdf>.
- Clube Português de Canicultura [CPC] (2016). Registos individuais por raça. Acedido em Ago. 10, 2017, disponível em: <http://www.cpc.pt/registos/estatisticas/registos2016.pdf>
- Credille, K.M., Slater, M.R., Moriello, K.A, Nachreiner, R.F., Tucker, K.A. & Dunstan, R.W. (2001). The effects of thyroid hormones on the skin of beagle dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15 (6), 539–46.
- Cunningham, J.G. (2002). *Tratado de Fisiologia Veterinária* (3ª edição). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Crispin, S.M. & Barnett, K.C. (1978). Arcus lipoides corneae secondary to hypothyroidism in the Alsatian. *Journal of Small Animal Practice*, 19 (1–12), 127–142.
- Daminet, S. (2010). Canine Hypothyroidism: Update on Diagnosis and Treatment. Acedido em. Fev. 9, 2017, disponível em: <http://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=4516304&pid=11310>
- Daminet, S., Croubels, S., Duchateau, L., Debunne, A., van Geffen, C., Hoybergs, Y., van Bree, H. & Rick, A. (2003). Influence of acetylsalicylic acid and ketoprofen on canine thyroid function tests. *Veterinary Journal*, 166 (3), 224–232.
- Daminet, S. & Ferguson, D.C. (2003). Influence of drugs on thyroid function in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine/American College of Veterinary Internal Medicine*, 17 (4), 463–472.
- Daminet, S., Fifle, L., Paradis, M., Duchateau, L. & Moreau, M. (2007). Use of recombinant human thyroid-stimulating hormone for thyrotropin stimulation test in healthy, hypothyroid and euthyroid sick dogs. *Canadian Veterinary Journal*, 48 (12), 1273-1279.
- Daminet, S. & Paradis, M. (2000). Evaluation of thyroid function in dogs suffering from recurrent flank alopecia. *Canadian Veterinary Journal*, 41 (9), 699–703.
- De Roover, K., Duchateau, L., Carmichael, N., van Geffen, C. & Daminet, S. (2006). Effect of storage of reconstituted recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) on thyroid-stimulating hormone (TSH) response testing in euthyroid dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20 (4), 812–817.
- Diaz-Espiñeira, M.M., Mol, J.A., Rijnberk, A. & Kooistra, H.S. (2009). Adenohypophyseal function in dogs with primary hypothyroidism and nonthyroidal illness. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23 (1), 100–107.
- Diaz-Espiñeira, M.M., Mol, J.A., van den Ingh, T.S.G.A.M., van der Vlugt-Meijer, R.H., Rijnberk, A. & Kooistra, H.S. (2008). Functional and morphological changes in the adenohypophysis of dogs with induced primary hypothyroidism: loss of TSH hypersecretion, hypersomatotropism, hypoprolactinemia, and pituitary enlargement with transdifferentiation. *Domestic Animal Endocrinology*, 35 (1), 98–111.
- Diaz Espineira, M.M., Mol, J.A, Peeters, M.E., Pollak, Y.W.E.A, Iversen, L., van Dijk, J.E., Rijnberk, A. & Kooistra, H.S. (2007). Assessment of thyroid function in dogs with low plasma thyroxine concentration. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21 (1), 25–32.

- Dixon, R.M. (2004). Canine hypothyroidism. In: C.T., Mooney & M.E., Peterson (Eds), *BSAVA manual of Canine and Feline Endocrinology* (3ª edição), pp. 76-94. Gloucester: BSAVA
- Dixon, R.M. & Mooney, C.T. (1999a). Canine serum thyroglobulin autoantibodies in health, hypothyroidism and non-thyroidal illness. *Research in Veterinary Science*, 66 (3), 243–6.
- Dixon, R.M. & Mooney, C.T. (1999b). Evaluation of serum free thyroxine and thyrotropin concentrations in the diagnosis of Canine hypothyroidism. *Journal of Small Animal Practice*, 40 (2), 72–78.
- Dixon, R.M., Reid, S.W.J. & Mooney, C.T. (2002). Treatment and therapeutic monitoring of canine hypothyroidism. *The Journal of Small Animal Practice*, 43 (8), 334–340.
- Dixon, R.M., Reid, S.W. & Mooney, C.T. (1999). Epidemiological, clinical, haematological and biochemical characteristics of canine hypothyroidism. *The Veterinary Record*, 145 (17), 481–487.
- Dodds, W.J. (n.d.). *Thyroid Disease and Autoimmune Thyroiditis*.
- Dodgson, S.E., Day, R. & Fyfe, J.C. (2012). Congenital Hypothyroidism with Goiter in Tenterfield Terriers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26 (6), 1350–1357.
- Egenvall, A., Bonnett, B.N., Olson, P. & Hedhammar, Å. (2000). Gender, age and breed pattern of diagnoses for veterinary care in insured dogs in Sweden during 1996. *The Veterinary Record*, 146 (19), 551–7.
- Elliott, D.A., King, L.G. & Zerbe, C.A. (1995). Thyroid Hormone Concentrations In Critically Ill Canine Intensive Care Patients. *J Vet Emerg Crit Care*, 5 (1), 17–23.
- Evason, M.D., Carr, A.P., Taylor, S.M. & Waldner, C.L. (2004). Alterations in thyroid hormone concentrations in healthy sled dogs before and after athletic conditioning. *Am J Vet Res*, 65 (3), 333–337.
- Ferguson, D.C. (2007). Testing for Hypothyroidism in Dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 37 (4), 647–669.
- Ferguson, D.C. & Peterson, M.E. (1992). Serum free and total iodothyronine concentrations in dogs with hyperadrenocorticism. *American Journal of Veterinary Research*, 53 (9), 1636–1640.
- Ferm, K., Björnerfeldt, S., Karlsson, Å., Andersson, G., Nachreiner, R. & Hedhammar, Å. (2009). Prevalence of diagnostic characteristics indicating canine autoimmune lymphocytic thyroiditis in giant schnauzer and hovawart dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 50 (4), 176–179.
- Fialkovičová, M., Mardzinová, S., Benková, M., Mojžišová, J., Gaálová, M. & Sesztáková, E. (2012). Seasonal influence on the thyroid gland in healthy dogs of various breeds in different weights. *Acta Veterinaria Brno*, 81 (2), 183–188.
- Foley, C., Bracker, K. & Drellich, S. (2009). Hypothalamic-pituitary axis deficiency following traumatic brain injury in a dog: Case Report. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 19(3), 269–274.
- Ford, S.L., Nelson, R.W., Feldman, E.C. & Niwa, D. (1993). Insulin resistance in three dogs with hypothyroidism and diabetes mellitus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 202 (9), 1478–80.

- Fracassi, F. & Tamborini, A. (2011). Reversible megaesophagus associated with primary hypothyroidism in a dog. *The Veterinary Record*, 168 (12), 329b.
- Frank, L. (1996). Comparison of thyrotropin-releasing hormone (TRH) to thyrotropin (TSH) stimulation for evaluating thyroid function in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 32 (6), 481–487.
- Frank, L.A. (2006). Comparative dermatology-canine endocrine dermatoses. *Clinics in Dermatology*, 24 (4), 317–325.
- Frank, L.A., Hnilica, K.A., May, E.R., Sargent, S.J. & Davis, J.A. (2005). Effects of sulfamethoxazole-trimethoprim on thyroid function in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 66 (2), 256–9.
- Friedrichs, K.R., Harr, K.E., Freeman, K.P., Szladovits, B., Walton, R.M., Barnhart, K.F. & Blanco-Chavez, J. (2012). ASVCP reference intervals guidelines: Determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology*, 41 (4), 441-453.
- Fritz, T.E., Lombard, L.S., Tyler, S.A. & Norris, W.P. (1976). Pathology and familial incidence of orchitis and its relation to thyroiditis in a closed beagle colony. *Experimental and Molecular Pathology*, 24 (2), 142–158.
- Fyfe, J.C., Kampschmidt, K., Dang, V., Poteet, B.A., He, Q., Lowrie, C., Graham, P.A. & Fetro, V.M. (2003). Congenital hypothyroidism with goiter in toy fox terriers. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 17 (1), 50–57.
- Gal, A., Raetzman, L.T. & Singh, K. (2012). Congenital adenohipophyseal hypoplasia associated with secondary hypothyroidism in a 2-week-old Portuguese water dog. *The Canadian Veterinary Journal*, 53 (6), 659–64.
- Gaskill, C.L., Burton, S.A., Gelens, H.C., Ihle, S.L., Miller, J.B., Shaw, D.H., Rimacombe, M.B. & Cribb, A.E. (2000). Changes in serum thyroxine and thyroid-stimulating hormone concentrations in epileptic dogs receiving phenobarbital for one year. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 23 (4), 243–9.
- Gaynor, A.R., Shofer, F.S. & Washabau, R.J. (1997). Risk factors for acquired megaesophagus in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211 (11), 1406–12.
- Giza, E., Nicpon, J. & Wrzosek, M. (2013). Clinical and electrodiagnostic findings in a cohort of 61 dogs with peripheral nervous system diseases - a retrospective study. *Pakistan Veterinary Journal*, 34 (2), 149–154.
- Gosselin, S., Capen, C.C. & Martin, S.L. (1978). Lymphocytic Thyroiditis in the dog. *American Journal of Pathology*, 90 (1), 285–88.
- Gottschalk, J., Einspanier, A., Ungemach, F.R. & Abraham, G. (2011). Influence of topical dexamethasone applications on insulin, glucose, thyroid hormone and cortisol levels in dogs. *Research in Veterinary Science*, 90 (3), 491–497.
- Gough, A. (2007). Differential diagnosis in small animal medicine. Oxford: Blackwell Publishing.
- Gough, A. & Thomas, A. (2010). Portuguese Water Dog. In *Breed predispositions to disease in dogs and cats* (2ª edição) (pp 124). UK: Wiley Blackwell

- Graham, P.A., Refsal, K.R., & Nachreiner, R.F. (2007). Etiopathologic Findings of Canine Hypothyroidism. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 37 (4), 617–631.
- Greco, D.S., Feldman, E.C., Peterson, M.E., Turner, J.L., Hodges, C.M. & Shipman, L.W. (1991). Congenital Hypothyroid Dwarfism in a Family of Giant Schnauzers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 5 (2), 57–65.
- Gulikers, K.P. & Panciera, D.L. (2003). Evaluation of the effects of clomipramine on canine thyroid function tests. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 17 (1), 44–49.
- Gulikers, K.P. & Panciera, D.L. (2002). Influence of various medications on canine thyroid function. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian-North American Edition*, 24 (7), 511–525.
- Happ, G. M. (1995). Thyroiditis—A model canine autoimmune disease. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*, 39 (1), 97–139.
- Hegstad-Davies, R.L., Torres, S.M.F., Sharkey, L.C., Gresch, S.C., Muñoz-Zanzi, C.A. & Davies, P.R. (2015). Breed-specific reference intervals for assessing thyroid function in seven dog breeds. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigations*, 27 (6), 716–727.
- Henik, R.A., & Dixon, R.M. (2000). Intravenous administration of levothyroxine for treatment of suspected myxedema coma complicated by severe hypothermia in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216 (5), 713–7, 685.
- Heseltine, J.C., Panciera, D L., Troy, G.C., Monroe, W.E., Brooks, M.B. & Feldman, B.F. (2005). Effect of levothyroxine administration on hemostatic analytes in Doberman Pinschers with von Willebrand disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19 (4), 523–527.
- Hess, R.S., Kass, P.H. & Van Winkle, T.J. (2003). Association between diabetes mellitus, hypothyroidism or hyperadrenocorticism, and atherosclerosis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17 (4), 489–494.
- Higgins, M.A., Rossmeisl Jr., J.H. & Panciera, D.L. (2006). Hypothyroid-associated central vestibular disease in 10 dogs: 1999–2005. *J Vet Intern Med*, 20 (6), 1363–1369.
- Hoh, W.P. & Oh, T.H. (2006). Circadian variations of serum thyroxine, free thyroxine and 3, 5, 3'triiodothyronine concentrations in healthy dogs. *Journal of Veterinary Science*, 7 (1), 25–29.
- Jaggy, A., Oliver, J.E., Ferguson, D.C., Mahaffey, E.A. & Jun, T.G. (1994). Neurological Manifestations of Hypothyroidism: A Retrospective Study of 29 Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 8 (5), 328–336.
- Johansson, J. (2011). *Review of the literature and an attempt to evaluate intake levels of iodine and selenium in dogs with and without lymphocytic thyroiditis*. Animal Science. Master's Thesis. Uppsala: Department of Animal Breeding and Genetics, Department of clinical Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Johnson, C., Olivier, N.B., Nachreiner, R. & Mullaney, T. (1999). Effect of ¹³¹I-Induced Hypothyroidism on Indices of Reproductive Function in Adult Male Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13 (2), 104–110.

- Jornal do Pet (2014). Os cães são os mamíferos mais diversificados (figura). Acedido em Set. 15, 2017, disponível em: <http://www.jornaldopet.com/2014/04/9-coisas-que-voce-nao-sabia-sobre-os.html>
- Junqueira, L.C & Carneiro, J. (2008). *Histologia Básica* (11ª edição). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Kantrowitz, L.B., Peterson, M.E., Melián, C. & Nichols, R. (2001). Serum total thyroxine, total triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations in dogs with nonthyroidal disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219 (6), 765–769.
- Karlsson, E.K. & Lindblad-Toh, K. (2008). Leader of the pack: gene mapping in dogs and other model organisms. *Nature Reviews. Genetics*, 9 (9), 713–25.
- Kemppainen, R.J. & Sartin, J.L. (1984). Evidence for episodic but not circadian activity in plasma concentrations of adrenocorticotrophin, cortisol and thyroxine in dogs. *Journal of Endocrinology*, 103 (2), 219–226.
- Kenefick, S.J. & Neiger, R. (2008). The effect of trilostane treatment on circulating thyroid hormone concentrations in dogs with pituitary- dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Small Animal Practice*, 49 (3), 139–143.
- Kennedy, L.J., Huson, H.J., Leonard, J., Angles, J.M., Fox, L.E., Wojciechowski, J.W., Yuncker, C. & Happ, G.M. (2006a). Association of hypothyroid disease in Doberman Pinscher dogs with a rare major histocompatibility complex DLA class II haplotype. *Tissue Antigens*, 67 (1), 53–56.
- Kennedy, L.J., Quarmby, S., Happ, G.M., Barnes, A., Ramsey, I.K., Dixon, R.M., Catchpole, B., Rusbridge, C., Graham P.A., Hillberts, N.S., Roethel, C., Doods, W.J., Carmichael, N.G. & Ollier, W.E.R. (2006b). Association of canine hypothyroidism with a common major histocompatibility complex DLA class II allele. *Tissue Antigens*, 68 (1), 82–86.
- Kloppmann, T. von, Boettcher, I.C., Rotermund, A., Rohn, K. & Tipold, A. (2006). Euthyroid sick syndrome in dogs with idiopathic epilepsy before treatment with anticonvulsant drugs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20 (3), 516–522.
- Kooistra, H.S., Diaz-Espineira, M., Mol, J.A., Van Den Brom, W.E., & Rijnberk, A. (2000). Secretion pattern of thyroid-stimulating hormone in dogs during euthyroidism and hypothyroidism. *Domestic Animal Endocrinology*, 18 (1), 19–29.
- Kooistra, H.S., Rijnberk, A. & van den Ingh, T.S. (1995). Polyglandular deficiency syndrome in a boxer dog: thyroid hormone and glucocorticoid deficiency. *The Veterinary Quarterly*, 17 (2), 59–63.
- Kooistra, H.S., Voorhout, G., Mol, J.A. & Rijnberk, A. (2000). Combined pituitary hormone deficiency in German shepherd dogs with dwarfism. *Domestic Animal Endocrinology*, 19 (3), 177–190.
- Krogh, A.K., Legind, P., Kjølgaard-Hansen, M., Bochsén, L. & Kristensen, A.T. (2014). Exercise induced hypercoagulability, increased von Willebrand factor and decreased thyroid hormone concentrations in sled dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56 (1), 1–7.
- Lavoué, R., Geffré, A., Braun, J.P., Peeters, D. & Trumel, C. (2013). Breed-specific biochemical reference intervals for the adult Dogue de Bordeaux. *Veterinary Clinical Pathology*, 42 (3), 346–359.

- Le Traon, G., Burgaud, S. & Horspool, L.J.I. (2008). Pharmacokinetics of total thyroxine in dogs after administration of an oral solution of levothyroxine sodium. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 31 (2), 95–101.
- Lee, J.A., Hinchcliff, K.W., Piercy, R.J., Schmidt, K.E. & Nelson Jr, S. (2004). Effects of racing and nontraining on plasma thyroid hormone concentrations in sled dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224 (2), 226–231.
- Levine, J.M., Bergman, R.L., Coates, J.R. & Shelton, G.D. (2005). Myasthenia gravis and hypothyroidism in a dog with meningomyelitis. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 41 (4), 247–251.
- Lim, E., Miyamura, J. & Chen, J.J. (2015). Racial/Ethnic-Specific Reference Intervals for Common Laboratory Tests: A Comparison among Asians, Blacks, Hispanics, and White. *Hawai'i Journal of Medicine & Public Health*, 74 (9), 302–310.
- Macgregor, J.M., Rozanski, E.A., McCarthy, R.J., Sharkey, L.C., Winter, M.D., Brown, D.J. & Rush, J.E. (2004). Cholesterol-Based Pericardial Effusion and Aortic Thromboembolism in a 9-Year-Old Mixed-Breed Dog with Hypothyroidism. *J Vet Intern Med*, 18 (3), 354–358.
- Miller, A.B., Nelson, R.W., Scott-Moncrieff, J.C., Neal, L. & Bottoms, G.D. (1992). Serial thyroid hormone concentrations in healthy euthyroid dogs, dogs with hypothyroidism, and euthyroid dogs with atopic dermatitis. *British Veterinary Journal*, 148 (5), 451–458.
- Miller, P.E. & Panciera, D.L. (1994). Effects of experimentally induced hypothyroidism on the eye and ocular adnexa of dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 55 (5), 692–7.
- Miller, W.H. & Buerger, R.G. (1990). Cutaneous mucinous vesiculation in a dog with hypothyroidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196 (5), 757–9.
- Miller, W.H., Griffin, C.E. & Campbell, K.L (2013). Endocrine and Metabolic Diseases. In *Muller & Kirk's: Small Animal Dermatology* (7^a edição). (pp 501-512). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.
- Mooney, C.T. (2011). Canine hypothyroidism: a review of aetiology and diagnosis. *New Zealand Veterinary Journal*, 59 (3), 105–14.
- Mooney, C.T. (2017). Canine Hypothyroidism. In S.J., Ettinger & C.F., Feldman (Eds). *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the dog and cat* (8^a edição). Missouri: Saunders Elsevier.
- Mooney, C.T. & Anderson, T.J. (1993). Congenital hypothyroidism in a boxer dog. *Journal of Small Animal Practice*, 34 (1), 31–35.
- Mooney, C.T., Shiel, R.E. & Dixon, R.M. (2008). Thyroid hormone abnormalities and outcome in dogs with non-thyroidal illness. *Journal of Small Animal Practice*, 49 (1), 11–16.
- Mooney, C.T. & Graham, P.A. (2012). Laboratory evaluation of hypothyroidism and hyperthyroidism. In: C.T., Mooney & M.E., Peterson (Eds), *BSAVA manual of Canine and Feline Clinical Pathology* (2^a edição), pp. 260-276. Gloucester: BSAVA.
- Mooney, C.T., & Shield, R.E. (2012). Canine Hypothyroidism. In: C.T., Mooney & M.E., Peterson (Eds), *BSAVA manual of Canine and Feline Endocrinology* (4^a edição), pp. 63-85. Gloucester: BSAVA.

- Nachreiner, R.F., Refsal, K.R., Graham, P.A., Hauptman, J. & Watson, G.L. (1998). Prevalence of autoantibodies to thyroglobulin in dogs with nonthyroidal illness. *American Journal of Veterinary Research*, 59 (8), 951–5.
- Nachreiner, R.F., Refsal, K.R., Graham, P.A. & Bowman, M.M. (2002). Prevalence of serum thyroid hormone autoantibodies in dogs with clinical signs of hypothyroidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220 (4), 466–471.
- Nachreiner, R.F., Refsal, K.R., Ravis, W.R., Hauptman, J., Rosser, E.J. & Pedersoli, W.M. (1993). Pharmacokinetics of L-thyroxine after its oral administration in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 54 (12), 2091–8.
- Nelson, R.W., Ihle, S.L., Feldman, E.C. & Bottoms, G.D. (1991). Serum free thyroxine concentration in healthy dogs, dogs with hypothyroidism, and euthyroid dogs with concurrent illness. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 198 (8), 1401–7.
- Nelson, R.W. & Couto, G.C. (2014). Disorders of the thyroid gland. In R.W. Nelson & G.C. Couto (Eds), *Small Animal Internal Medicine* (5ª edição), pp 740-776. Missouri: Elsevier
- Neufeld, M., Maclaren, N.K., & Blizzard, B.M. (1981). Two types of autoimmune Addison's disease associated with different polyglandular autoimmune (PGA) syndromes. *Medicine*, 60, 355–362.
- O'Neill, S.H., Frank, L.A. & Reynolds, L.M. (2010). Effect of an anti-inflammatory dose of prednisone on thyroid hormone monitoring in hypothyroid dogs. *Veterinary Dermatology*, 22 (2), 202–205.
- Oberbauer, A., Bell, J., Belanger, J. & Famula, T. (2006). Genetic evaluation of Addison's disease in the Portuguese Water Dog, 2 (15), 1–7.
- Panakova, L., Koch, H., Kolb, S. & Mueller, R.S. (2008). Thyroid testing in sloughis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22 (5), 1144–1148.
- Panciera, D.L. (2001). Conditions Associated with Canine Hypothyroidism. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 31 (5), 935–950.
- Panciera, D.L. (1994a). An echocardiographic and electrocardiographic study of cardiovascular function in hypothyroid dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 205 (7), 996–1000.
- Panciera, D.L. (1994b). Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987-1992). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 204 (5), 761–7.
- Panciera, D.L., & Johnson, G.S. (1994). Plasma von Willebrand factor antigen concentration in dogs with hypothyroidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 205(11), 1505-1553.
- Panciera, D.L., Helfand, S.C. & Soergel, S.A. (1995). Acute effects of continuous infusions of human recombinant interleukin-2 on serum thyroid hormone concentrations in dogs. *Veterinary Science*, 58 (1), 96–97.
- Panciera, D.L., Hinchcliff, K.W., Olson, J. & Constable, P.D. (2003). Plasma thyroid hormone concentrations in dogs competing in a long-distance sled dog race. *Journal of Veterinary Internal Medicine/American College of Veterinary Internal Medicine*, 17 (4), 593–596.

- Panciera, D.L. & Johnson, G.S. (1996). Plasma von Willebrand factor antigen concentration and buccal mucosal bleeding time in dogs with experimental Hypothyroidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 10 (2), 60–64.
- Panciera, D.L. & Johnston, S.A. (2002). Results of thyroid function tests and concentrations of plasma proteins in dogs administered etodolac. *American Journal of Veterinary Research*, 63 (11), 1492–1495.
- Panciera, D.L., Purswell, B.J. & Kolster, K.A. (2007). Effect of short-term hypothyroidism on reproduction in the bitch. *Theriogenology*, 68 (3), 316–321.
- Panciera, D.L., Purswell, B.J., Kolster, K.A., Werre, S.R. & Trout, S.W. (2012). Reproductive Effects of Prolonged Experimentally Induced Hypothyroidism in Bitches. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26 (2), 326–333.
- Panciera, D.L. & Refsal, K.R. (1994). Thyroid function in dogs with spontaneous and induced congestive heart failure. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 58 (3), 157–162.
- Panciera, D.L., Refsal, K.R., Sennello, K.A. & Ward, D.L. (2006). Effects of deracoxib and aspirin on serum concentrations of thyroxine, 3,5,3'-triiodothyronine, free thyroxine, and thyroid-stimulating hormone in healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 67 (4), 599–603.
- Paradis, M., Sauvé, F., Charest, J., Refsal, K.R., Monreau, M. & Dupuis, J. (2003). Effects of moderate to severe osteoarthritis on canine thyroid function. *Canadian Veterinary Journal*, 44 (5), 407–412.
- Parker, H.D., Kim, L.V., Sutter, N.B., Carlson, S., Lorentzen, T.D., Malek, T.B., Johnson, G.S., De France, H.B., Ostrander, E.A. & Kruglyak, L. (2004). Genetic Structure of the Purebred Domestic Dog. *Science*, 304, 1160–1165.
- Paull, L.C., Scott-Moncrieff, J.C.R., DeNicola, D.B., Glickman, N., Refsal, K.R. & Glickman, L.T. (2003). Effect of Anticonvulsant Dosages of Potassium Bromide on Thyroid Function and Morphology in Dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 39 (2), 193–202.
- Pedra da Anixa (2010). Um pouco de história sobre a história do Cão de Água Português. Acedido em Set. 8, 2017, disponível em: <http://www.pedradaanixa.com/historia.htm>
- Peremans, K. (2012). Scintigraphy and the Thyroid: a great alliance. In *Proceedings of the British small veterinary congress* (pp 157-158), Birmingham. Gloucester: BSAVA.
- Peterson, M.E., Melián, C. & Nichols, R. (1997a). Measurement of serum total thyroxine, triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations for diagnosis of hypothyroidism in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211 (11), 1396–402.
- Pettigrew, R., Fyfe, J.C., Gregory, B.L., Lipsitz, D., Delahunta, A., Summers, B.A. & Shelton, G.D. (2007). CNS hypomyelination in Rat Terrier dogs with congenital goiter and a mutation in the thyroid peroxidase gene. *Veterinary Pathology*, 44 (1), 50–6.
- Piechotta, M., Jens, R., Rick, M., Beyerbach, M. & Hoppen, H.O. (2012). Serum transthyretin concentration is decreased in dogs with nonthyroidal illness. *Veterinary Clinical Pathology*, 41 (1), 110–113.
- Pikula, J., Pikulova, J., Bandouchova, H., Hajkova, P. & Faldyna, M. (2007). Schmidt's

syndrome in a dog: a case report. *Veterinarni Medicina*, 52 (9), 419–422.

- Pinilla, M., Shiel, R.E., Brennan, S.F., McAllister, H. & Mooney, C.T. (2009). Quantitative thyroid scintigraphy in greyhounds suspected of primary hypothyroidism. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 50 (2), 224–229.
- Pires, A.E., Ouragh, L., Kalboussi, M., Matos, J., Petrucci-Fonseca, F. & Bruford, M.W. (2006). Mitochondrial DNA Sequence Variation in Portuguese Native Dog Breeds: Diversity and Phylogenetic Affinities. *Journal of Heredity*, 97 (4), 318–330.
- Prummel, M.F., Strieder, T. & Wiersinga, W.M. (2004). The environment and autoimmune thyroid diseases. *European Journal of Endocrinology/European Federation of Endocrine Societies*, 150(5), 605–18.
- Pullen, W.H. & Hess, R.S. (2006). Hypothyroid dogs treated with intravenous levothyroxine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20 (1), 32–37.
- Portuguese Water Dog Clube of America [PWDCA] (2017). Thyroid: Thyroid Conditions. Acedido em Jan. 20, 2017, disponível em: <http://www.pwdca.org/thyroid>
- Radosta, L.A., Shofer, F.S. & Reisner, I.R. (2012). Comparison of thyroid analytes in dogs aggressive to familiar people and in non-aggressive dogs. *Veterinary Journal*, 192 (3), 472–475.
- Ramsey, I.K., Evans, H. & Herrtage, M.E. (1997). Thyroid-stimulating hormone and total thyroxine concentrations in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs. *The Journal of Small Animal Practice*, 38 (12), 540–545.
- Reese, S., Breyer, U., Deeg, C., Kraft, W. & Kaspers, B. (2005). Thyroid sonography as an effective tool to discriminate between euthyroid sick and hypothyroid dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19 (4), 491–498.
- Reimers, T.J., Mummery, L.K., Mc Cann, J., Cowa, R.G. & Concannon, P.W. (1984). Effects of reproductive state on concentrations of thyroxine, 3,5,3'-triiodothyronine and cortisol in serum of dogs. *Biol Reprod*, 31 (1), 148-154.
- Reimers, T.J., Lawler, D.F., Sutaria, P.M., Correa, M.T. & Erb, H.N. (1990). Effects of age, sex, and body size on serum concentrations of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 51 (3), 454–7.
- Reusch, C.E., Gerber, B. & Boretti, F.S. (2002). Serum fructosamine concentrations in dogs with hypothyroidism. *Veterinary Research Communications*, 26 (7), 531–6.
- Resomnia - Instituto Galach (s/d). As raças humanas. Edição Portuguesa: Editorial Enciclopédia, Lda.
- Rijnberk, A., & Kooistra, H. (2010). Thyroids. In A. Rijnberk, & H. Kooistra, *Clinical Endocrinology of dogs and cats* (2ª edição), pp 57-89. Hanover: Schluetersche.
- Robinson, W.F., Shaw, S.E., Stanley, B. & Wyburn, R.S. (1988). Congenital hypothyroidism in Scottish Deerhound puppies. *Australian Veterinary Journal*, 65 (12), 386–9.
- Rossmeisl, J.H. (2010). Resistance of the Peripheral Nervous System to the Effects of Chronic Canine Hypothyroidism. *J Vet Intern Med*, 24 (4), 875–881.
- Rossmeisl, J.H., Duncan, R.B., Inzana, K.D., Panciera, D.L. & Shelton, G.D. (2009).

Longitudinal study of the effects of chronic hypothyroidism on skeletal muscle in dogs. *Am J Vet Res*, 70 (7), 879–889.

Royal Canin (2012). Enciclopédia do Cão. Portugal: Aniwa.

Safer, J.D., Crawford, T.M. & Holick, M.F. (2004). A role for thyroid hormone in wound healing through keratin gene expression. *Endocrinology*, 145 (5), 2357–2361.

Sauvé, F. & Paradis, M. (2000). Use of recombinant human thyroid-stimulating hormone for thyrotropin stimulation test in euthyroid dogs. *Canadian Veterinary Journal*, 41 (3), 215–219.

Sauvé, F., Paradis, M., Refsal, K.R., Moreau, M., Beauchamp, G. & Dupuis, J. (2003). Effects of oral administration of meloxicam, carprofen, and a nutraceutical on thyroid function in dogs with osteoarthritis. *Canadian Veterinary Journal*, 44 (6), 474–479.

Schachter, S., Nelson, R.W., Scott-Moncrieff, C., Ferguson, D.C., Montgomery, T., Feldman, E.C., Neal, L. & Kass, P.H. (2004). Comparison of serum-free thyroxine concentrations determined by standard equilibrium dialysis, modified equilibrium dialysis, and 5 radioimmunoassays in dogs. *J Vet Intern Med*, 18 (3), 259–264.

Schoeman, J.P. & Herrtage, M.E. (2008). Serum thyrotropin, thyroxine and free thyroxine concentrations as predictors of mortality in critically ill puppies with parvovirus infection: a model for human paediatric critical illness. *Microbes and Infection*, 10 (2), 203–207.

Schoeman, J.P., Rees, P. & Herrtage, M.E. (2007). Endocrine predictors of mortality in canine babesiosis caused by *Babesia canis rossi*. *Veterinary Parasitology*, 148 (2), 75–82.

Scott-Moncrieff, J.C. (2010). Hypothyroidism. In S.J., Ettinger & C.F., Feldman (Eds). *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7ª edição). Missouri: Saunders Elsevier.

Scott-Moncrieff, J.C. (2015). Hypothyroidism. In Feldman, E.C., Nelson, R.W., Reusch, C., Scott-Moncrieff, J.C. & Behrend, E., *Canine and Feline Endocrinology* (4ª edição), pp. 77–124. Missouri: Saunders.

Scott-Moncrieff, J.C., Azcona-Olivera, J., Glickman, N.W., Glickman, L.T. & HogenEsch, H. (2002). Evaluation of antithyroglobulin antibodies after routine vaccination in pet and research dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221 (4), 515–521.

Scott-Moncrieff, J.C., Glickman, N.W., Glickman, L.T. & HogenEsch, H. (2006). Lack of association between repeated vaccination and thyroiditis in laboratory Beagles. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20 (4), 818–821.

Scott-Moncrieff, J.C. (2007). Clinical Signs and Concurrent Diseases of Hypothyroidism in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 37 (4), 709–722.

Scott-Moncrieff, J.C., Nelson, R.W., Bruner, J.M. & Williams, D.A. (1998). Comparison of serum concentrations of thyroid-stimulating hormone in healthy dogs, hypothyroid dogs, and euthyroid dogs with concurrent disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 212 (3), 387–91.

Seavers, A., Snow, D.H., Mason, K.V. & Malik, R. (2008). Evaluation of the thyroid status of Basenji dogs in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 86 (11), 429–434.

- Seelig, D.M., Whittemore, J.C., Lappin, M.R., Myers, A.M. & Avery, P.R. (2008). Goitrous hypothyroidism associated with treatment with trimethoprim-sulfamethoxazole in a young dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232 (8), 1181–1185.
- Segalini, V., Hericher, T., Grellet, A., Rosenberg, D., Garnier, F. & Fontbonne, A. (2009). Thyroid function and infertility in the dog: A survey in five breeds. *Reproduction in Domestic Animals*, 44 (2), 211–213.
- Sharkey, L., Gjevre, K., Hegstad-Davies, R., Torres, S. & Muñoz-Zanzi, C. (2009). Breed-associated variability in serum biochemical analytes in four large-breed dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 38 (3), 375–380.
- Sheerer, K.N., Couto, C.G., Marin, L.M., Zaldivar-Lopez, S., Iazbik, M.C., Dillberger, J.E., Frye, M. & Denicola, D.B. (2013). Haematological and biochemical values in North American Scottish deerhounds. *Journal of Small Animal Practice*, 54 (7), 354–360.
- Shiel, R.E., Acke, E., Puggioni, A., Cassidy, J.P. & Mooney, C.T. (2007). Tertiary hypothyroidism in a dog. *Irish Veterinary Journal*, 60 (2), 88–93.
- Shiel, R.E., Brennan, S.F., Omodo-Eluk, A. & Mooney, C.T. (2007). Thyroid hormone concentrations in young, healthy, pretraining greyhounds. *The Veterinary Record*, 161 (18), 616–9.
- Shiel, R.E., Pinilla, M., McAllister, H. & Mooney, C.T. (2012). Assessment of the value of quantitative thyroid scintigraphy for determination of thyroid function in dogs, 53, 278–85.
- Shiel, R.E., Sist, M., Nachreiner, R.F., Ehrlich, C.P. & Mooney, C.T. (2010). Assessment of criteria used by veterinary practitioners to diagnose hypothyroidism in sighthounds and investigation of serum thyroid hormone concentrations in healthy Salukis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236 (3), 302–308.
- Simpson, C., Devi, J.L. & Whitem, T. (2013). Bioavailability of two L-thyroxine formulations after oral administration to healthy dogs. *Australian Veterinary Journal*, 91 (3), 83–88.
- Stephan, I., Nolte, I. & Hoppen, H.O. (2003). The effect of hypothyroidism on cardiac function in dogs. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 110 (6), 231–9.
- Sullivan, P., Gompf, R., Schmeitzel, L., Clift, R., Cottrell, M. & McDonald, T.P. (1993). Altered platelet indices in dogs with hypothyroidism and cats with hyperthyroidism. *American Journal of Veterinary Research*, 54 (12), 2004–9.
- Sundberg, K. (2012). *Unraveling the Genetics of Lymphocytic Thyroiditis: using the dog as a model*.
- Tabanez, J.S.S. (2012). Estudo da prevalência de hipotireoidismo em 87 cães da raça Portuguesa Rafeiro do Alentejo. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa.
- Taeymans, O., Dennis, R. & Saunders, J. (2008b). Magnetic Resonance Imaging of the Normal Canine Thyroid. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 49 (3), 238–242.
- Taeymans, O., Peremans, K. & Saunders, J. H. (2007). Thyroid imaging in the dog: current status and future directions. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21 (4), 673–684.
- Taeymans, O., Schwarz, T., Duchateau, L., Barberet, V., Gielen, I., Haskins, M., VanBree, H. & Saunders, J.H. (2008a). Computed tomographic features of the normal canine thyroid

- gland. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 49 (1), 13–19.
- Uhríková, I., Lacnakova, A., Tandlerova, K., Kucharova, V., Rehakova, K., Janova, E. & Doubek, J. (2013). Haematological and biochemical variations among eight sighthound breeds. *Australian Veterinary Journal*, 91 (11), 452–459.
- Vail, D.M., Panciera, D.L., & Ogilvie, G.K. (1994). Thyroid hormone concentrations in dogs with chronic weight loss, with special reference to cancer cachexia. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 8 (2), 122–127.
- van Geffen, C., Bavegems, V., Duchateau, L., De Roover, K. & Daminet, S. (2006). Serum thyroid hormone concentrations and thyroglobulin autoantibodies in trained and non-trained healthy whippets. *Veterinary Journal*, 172 (1), 135–140.
- Van Winkle, T.J., Liu, S.M. & Hackner, S.G. (1993). Clinical and Pathological Features of Aortic Thromboembolism in 36 Dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 3 (1), 13–21.
- Vasconcelos, R.C. (1993). Raças de Cães Portugueses. (2ª edição). pp 87-98. Lisboa: Editorial Presença.
- Vila, C., Maldonado, J.E. & Wayne, R.K. (1999). Phylogenetic Relationships , Evolution , and Genetic Diversity of the Domestic Dog. *The American Genetic Association*, 90, 71–77.
- Vitale, C.L., & Olby, N.J. (2007). Neurologic dysfunction in hypothyroid, hyperlipidemic Labrador Retrievers. *Journal of Veterinary Internal Medicine/American College of Veterinary Internal Medicine*, 21 (6), 1316–1322.
- Walton, R.M. (2012). Subject-based reference values: Biological variation, individuality, and reference change values. *Veterinary Clinical Pathology*, 41 (2), 175–181.
- Warner, M.H. & Beckett, G.J. (2010). Mechanisms behind the non-thyroidal illness syndrome: An update. *Journal of Endocrinology*, 205 (1), 1–13.
- Wayne, R.K. & Ostrander, E.A. (1999). Origin , genetic diversity , and genome structure of the domestic dog. *BioEssays*, 21 (3), 247–257.
- Wilbe, M., Sundberg, K., Hansen, I.R., Strandberg, E., Nachreiner, R.F., Hedhammar, Å., Kennedy, L.J., Andersson, G. & Björnerfeldt, S. (2010). Increased genetic risk or protection for canine autoimmune lymphocytic thyroiditis in Giant Schnauzers depends on DLA class II genotype. *Tissue Antigens*, 75 (6), 712–719.
- Williams, D.L., Pierce, V., Mellor, P. & Heath, M.F. (2007). Reduced tear production in three canine endocrinopathies. *Journal of Small Animal Practice*, 48 (5), 252–256.
- Williamson, N.L., Frank, L.A. & Hnilica, K.A. (2002). Effects of short-term trimethoprim-sulfamethoxazole administration on thyroid function in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221 (6), 802–6.
- Zaldívar-López, S., Marín, L.M., Iazbik, M.C., Westendorf-Stingle, N., Hensley, S. & Couto, C.G. (2011). Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. *Veterinary Clinical Pathology*, 40 (4), 414–425.
- Zaletel, K. & Gaberscek, S. (2011). Hashimoto's Thyroiditis: From Genes to the Disease. *Current Genomics*, 12 (8), 576–588.

ANEXO 1 – ESTALÃO DO CÃO DE ÁGUA PORTUGUÊS (CPC, 2008)

ORIGEM

Portugal.

DATA DE PUBLICAÇÃO DO ESTALÃO DE ORIGEM EM VIGOR

04-11-2008.

UTILIZAÇÃO

Companheiro na faina da pesca e no cobro e cão de companhia.

CLASSIFICAÇÃO F.C.I.:

Grupo 8 – Cães Cobradores e Levantadores de Caça e Cães de Água.

Secção 3 – Cães de Água.

Sem prova de trabalho.

BREVE RESUMO HISTÓRICO:

Em épocas muito remotas o Cão de Água existiu em todo o litoral português. Entretanto, devido à modernização contínua dos métodos de pesca, a raça não se encontra só no Algarve que é tido como a sua região berço. A sua presença nas costas de Portugal remonta a épocas muito longínquas, e deve-se considerar como uma raça portuguesa autóctone.

ASPETO GERAL E APTIDÕES

Cão de proporções médias, de silhueta convexilínea a retilínea, de tipo bracóide. Harmónico nas suas proporções, bem equilibrado, robusto e bem musculado. O seu desenvolvimento muscular, devido aos frequentes exercícios de natação, é apreciável.

PROPORÇÕES IMPORTANTES

De forma quase quadrada, o comprimento do corpo é aproximadamente igual à altura ao garrote. A relação altura ao garrote/altura do peito é de 2:1; a relação comprimento do crânio/chanfro é de 4:3.

COMPORTAMENTO/CARÁTER

Animal de inteligência excecional, compreende e obedece facilmente com prazer a todas as ordens do seu dono.

É impetuoso, voluntarioso, corajoso, sóbrio e resistente à fadiga. A sua expressão é severa e o seu olhar penetrante; possui uma excelente visão e olfato.

Nadador e mergulhador excelente e resistente, é companheiro inseparável de pescadores aos quais presta inúmeros serviços não só na pesca, mas também como guarda e defensor dos seus barcos e dos seus bens.

Na hora da pesca, salta espontaneamente para o mar e mergulha se necessário para apanhar e trazer o peixe que escapou; age da mesma maneira quando uma rede se rompe ou uma amarra se solta. Este cão é também utilizado como agente de ligação entre o barco e a costa e vice-versa, mesmo a uma distância considerável.

CABEÇA

Bem proporcionada, forte e larga. Eixos craniofaciais paralelos.

REGIÃO CRANIANA

Crânio: Visto de perfil é ligeiramente mais comprido do que o chanfro (4:3); é abaulado de uma maneira mais marcada na região occipital sendo a sua protuberância pronunciada. Vistos de frente os parietais são arredondados com uma ligeira depressão a meia altura; o frontal é ligeiramente encovado, o sulco frontal prolonga-se até dois terços dos parietais; as arcadas supraciliares são proeminentes.

Stop: Bem marcado e colocado ligeiramente mais atrás do que o ângulo interno dos olhos.

REGIÃO FACIAL

Trufa: larga, as narinas são bem abertas e bem pigmentadas. De cor preta nos exemplares de pelagem preta, branca e preta e branca. Nos cães de cor castanha, a cor do nariz corresponde à cor da pelagem, mas não deve ser marmoreada.

Chanfro: direito, mais largo na base que na extremidade.

Lábios: espessos especialmente na parte da frente. Comissura não aparente. Mucosa bucal (céu da boca, debaixo da língua e gengivas) acentuadamente pigmentada de preto; de cor castanha escura nos cães dessa mesma cor.

Maxilas/Dentes: maxilas fortes, dentes são não visíveis quando a boca está fechada. Caninos fortes e bem desenvolvidos. Articulação em tesoura ou pinça.

Olhos: de tamanho médio, à flor da pele e arredondados. Bem afastados e ligeiramente oblíquos. A íris é de cor preta ou castanha. As pálpebras, de pele fina, são orladas de preto e castanho nos cães desta cor. A conjuntiva não é aparente.

Orelhas: inseridas acima da linha dos olhos, são colocadas contra a cabeça, levantadas para trás e em forma de coração. Finas; a sua ponta não deve nunca ultrapassar o bordo da garganta.

PESCOÇO

Direito, curto, arredondado, bem musculado, bem lançado e de porte altivo, saída de pescoço harmoniosa. Sem colar nem barbela.

TRONCO

Linha superior: direita e horizontal.

Garrote: largo e não proeminente.

Dorso: direito, curto, largo e bem musculado.

Rim: curto e bem unido à garupa.

Garupa: bem proporcionada, levemente inclinada; ancas simétricas; garupa não proeminente.

Peito: largo e profundo, atingindo o nível do cotovelo. As costelas são compridas e bem arqueadas, proporcionando grande capacidade respiratória.

Linha Inferior e Ventre: de forma elegante e volume reduzido.

CAUDA

Inteira, de inserção média, espessa na base vai adelgaçando para a extremidade. O seu comprimento não deve ultrapassar o jarrete. Quando o cão está atento, a cauda enrola em forma de anel, mas não deve ultrapassar o meio do rim. A cauda é um precioso auxiliar para nadar e mergulhar.

MEMBROS

MEMBROS ANTERIORES: fortes e direitos. Bem aprumados.

Os metacarpos admitem-se ligeiramente inclinados.

Ombros: bem inclinados de perfil e transversalmente. A musculatura é fortemente desenvolvida.

Braços: fortes e de comprimento médio. Paralelos à linha mediana do corpo.

Antebraços: compridos e fortemente musculados.

Carpos: forte ossatura, mais largos de frente do que de perfil.

Metacarpos: compridos e fortes.

Mãos: arredondadas e planas, os dedos não são muito arqueados, nem muito compridos. A membrana interdigital, que chega à ponta dos dedos é de textura flácida e bem fornecida de pelos compridos. As unhas devem ser preferencialmente pretas, mas de acordo com a cor das pelagens admite-se unhas brancas tigradas ou castanhas. As unhas não tocam o solo. A almofada central é dura e espessa, as outras almofadas são de espessura normal.

MEMBROS POSTERIORES: bem musculados e aprumados.

São admitidos metatarsos ligeiramente oblíquos.

Nádegas: fortes e bem arredondadas.

Coxas: fortes e de comprimento médio. Muito musculadas.

Joelho: nem virado para fora nem para dentro.

Pernas: compridas e muito bem musculadas. Nem viradas para dentro nem viradas para fora. Bem inclinados de frente para trás. Os tendões e os ligamentos são sólidos.

Jarrete: forte.

Metatarsos: compridos. Sem presunhos.

Pés: em tudo idêntico às mãos.

ANDAMENTOS

Movimentos desembaraçados, passo curto na marcha, trote ligeiro e bem cadenciado, galope enérgico.

PELE

Espessa, macia, mas não tensa, as mucosas internas e externas são, de preferência, bem pigmentadas.

PELAGEM

Pelo: todo o corpo se encontra abundantemente revestido de pelo resistente, sem sub-pelo. Há duas variedades de pelagem: uma comprida e ondulada e outra mais curta e encarapinhada. O pelo comprido é um pouco lustroso e lanoso; o pelo mais curto é denso, baço e forma mechas cilíndricas. À exceção das axilas e virilhas o pelo é repartido de modo igual por todo o corpo. Na variedade de pelo comprido e ondulado, o pelo forma uma espécie de carrapito ondulado sobre a cabeça; na variedade de pelo mais curto, o carrapito é formado por pelos encarapinhados. Na variedade de pelo comprido, o pelo é mais comprido nas orelhas.

Cor: a pelagem é preta ou castanhas nas diferentes tonalidades ou branco uniforme. Nos cães pretos ou castanhos, o branco é admitido no chanfro, no carrapito, no pescoço, no peitoral, no ventre, na extremidade da cauda, nas extremidades dos membros, bem como debaixo dos cotovelos e dos jarretes. A pelagem branca não deve ser albina; por consequência a trufa, as pálpebras e as mucosas bocais devem ser pigmentadas de preto e de castanho nos cães castanhos.

A tosquia parcial é típica para esta raça logo que o pelo se torne muito comprido. Tosquiam-se estes cães atrás até meio do corpo bem como no chanfro e na cauda, deixando, contudo, um carrapito na ponta da cauda.

ALTURA E PESO

Altura ao garrote:

Machos: de 50-57cm, altura ideal 54cm.

Fêmeas: de 43-52cm, altura ideal 46cm.

Peso

Machos: 19-25kg.

Fêmeas: 16-22kg.

DEFEITOS

Qualquer desvio em relação ao estalão deve ser considerado como defeito e penalizado de acordo com a sua gravidade e das suas consequências na saúde e bem-estar do cão.

DEFEITOS GRAVES

Cabeça: muito comprida, muito estreita, plana ou afilada.

Chanfro: muito afilado ou muito pontiagudo.

Olhos: claros, muito proeminentes ou muito encovados.

Orelhas: mal inseridas, muito grandes, muito curtas ou dobradas.

Cauda: pesada, pendente em ação ou levada direita.

DEFEITOS ELIMINATÓRIOS (DESQUALIFICAÇÕES)

Comportamento: agressivo ou demasiado tímido.

Tamanho: muito grande ou muito pequeno.

Maxilas: prognatismo superior ou inferior.

Olhos: esbranquiçados, de forma ou de tamanho desigual.

Surdez: congênita ou adquirida.

Cauda: amputada, rudimentar de nascença, sujeitos anuros.

Pés: existência de presunhos.

Pelagem: pelagem diferente das normas fixadas pelo estalão.

Cor: albinismo, trufa parcial ou totalmente despigmentada. Outra cor que não as fixadas pelo estalão.

Todo o cão que apresentar, de forma evidente, anomalias de ordem física ou comportamental deve ser desqualificado.

Nota: os machos devem apresentar os dois testículos, de aparência normal, bem descidos no escroto.

ANEXO 2 - QUESTIONÁRIO REALIZADO AOS TUTORES DE CÃO DE ÁGUA PORTUGUÊS, COMO COMPONENTE DE RECOLHA DE INFORMAÇÃO INDIVIDUAL



Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Veterinária

Questionário de participação em projeto de MIMV

Nº da amostra: _____ Data: _____ Hora da colheita _____

Este questionário destina-se a um trabalho no âmbito da Tese de Mestrado Integrado intitulada: **“Determinação do valor fisiológico de T₄ e TSH em Cão de Água Português”** da aluna Mara Nunes. Dada a inexistência de valores de referência adaptados a cada raça e estando descrito o hipotireoidismo como sendo uma doença com alguma frequência no Cão de Água, parece importante, do ponto de vista clínico e epidemiológico, conhecer quais os valores fisiológicos da raça em questão.

Dados do Proprietário:

Nome: _____
Localização: _____
Contacto: _____ / _____

Dados do Animal:

Nome: _____ Data de Nascimento: _____
Peso: _____ Género: _____ Esterilizado/Castrado: _____ SIM _____ NÃO
Se fêmea, data do último cio/gravidez: _____
LOP/RI: _____ Nº do microchip: _____

Assinale com um “X” nos locais que ache apropriado.

1. Doenças prévias ou atuais?

Hiperadrenocorticism (Cushing) <input type="checkbox"/>	Insuficiência Cardíaca <input type="checkbox"/>
Diabetes Mellitus <input type="checkbox"/>	Piodermite <input type="checkbox"/>
Doença Hepática <input type="checkbox"/>	Neoplasias <input type="checkbox"/>
Hipoadrenocorticism (Adisson) <input type="checkbox"/>	Outras <input type="checkbox"/>
Insuficiência Renal <input type="checkbox"/>	Quais? _____

2. Terapêutica em curso (último mês):

Glucocorticoides <input type="checkbox"/>	Anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) <input type="checkbox"/>
Sulfonamidas potenciadas <input type="checkbox"/>	Propanolol <input type="checkbox"/>
Fenobarbital <input type="checkbox"/>	Outras <input type="checkbox"/>
Brometo de potássio <input type="checkbox"/>	Quais? _____

3. Manifestações de doença (anterior ou atual)

Perda de apetite ☐

Aumento da ingestão de água ☐

Aumento da ingestão de comida ☐

Alterações nas fezes (quantidade, cor, consistência, frequência) ☐

Alterações na urina (quantidade, cor, frequência) ☐

Vómito ☐Diarreia ☐

Alterações no Comportamento (letargia, prostração, cansaço, etc) ☐

Tipo de alimentação: Ração Seca ☐ Húmida ☐ Caseira ☐

Faz suplementação? Sim ☐ Não ☐ Com o quê? _____

Última

Vacina	Qual?

Última Desparasitação _____ Com o quê? _____

Observações no exame físico (a preencher na altura da colheita)

[illegible]

Muito obrigado pela sua colaboração.

ANEXO 3 – RESULTADOS: ANIMAIS, IDADE, GÊNERO/ESTERILIZAÇÃO E DOSEAMENTOS DE T₄ E TSH

Animal	Idade	Sexo/ Esterilização	tT4 (µg/dL)	TSH (ng/mL)
1	8 meses	FC	1,4	0,1
2	3 anos	F	1,5	0,13
3	7 anos	FC	1,1	0,22
4	8 meses	F	2,1	0,08
5	9 anos	MC	1,7	0,51
6	8 anos	FC	1,5	0,6
7	6 anos	FC	1,3	0,16
8	2 anos	M	1,8	0,12
9	2 anos	FC	1,9	0,04
10	8 meses	M	2	0,07
11	5 anos	FC	2,4	0,27
12	1 ano	F	2,7	0,03
13	8 meses	F	1,8	0,07
14	8 meses	F	1,9	0,05
15	7 meses	F	1,9	0,11
16	2 anos	M	2	0,11
17	6 anos	F	1,2	0,05
18	9 anos	FC	1,7	0,08
19	4 anos	FC	1,5	0,15
20	4 anos	M	0,92	0,07
21	2 anos	F	2,3	0,1
22	9 anos	MC	1,4	0,15
23	1 ano	F	2	<0,03
24	5 anos	M	1	0,57
25	3 anos	F	1,5	0,19
26	4 anos	F	1,2	0,12
27	7 anos	F	2,1	0,14
28	2 anos	M	2	0,05
29	1 ano	M	1,7	0,29
30	2 anos	F	1	0,05
31	1 ano	M	1,1	0,03
32	6 anos	M	1,3	0,05
33	5 anos	M	1,4	0,24
34	2 anos	FC	1,6	0,12
35	8 meses	F	1,2	0,04
36	5 anos	FC	1,5	1,6
37	6 meses	M	1,8	0,12
38	7 anos	FC	1,1	<0,03
39	7 anos	FC	2	0,17
40	2 anos	M	<0,5	2,8
41	7 anos	F	1,6	0,67
42	6 anos	F	1,4	0,96
43	10 anos	F	0,62	0,64
44	2 anos	F	1,9	0,14
45	6 anos	FC	1,9	0,06
46	10 anos	F	0,94	0,1
47	10 anos	M	1,5	0,21
48	10 anos	M	1,6	0,22
49	1 ano	M	1,5	0,05
50	1 ano	M	1,3	<0,03
51	1 ano	M	2,4	0,16
52	6 anos	M	1,5	0,26
53	4 anos	F	1,5	0,22
54	8 anos	M	1,3	1,2
55	10 anos	MC	2	0,12
56	4 anos	F	1,8	0,63
57	2 anos	M	1,8	<0,03
58	10 anos	FC	1,7	0,13
59	10 anos	FC	1,1	0,1
60	10 anos	F	1,5	<0,03
61	10 anos	F	<0,5	0,85
62	7 anos	F	1,2	1
63	3 anos	M	2,2	0,28
64	4 anos	MC	1,7	0,05
65	2 anos	MC	1,4	0,09

66	3 anos	F	1,7	<0,03
67	4 anos	FC	1,5	0,24
68	1 ano	F	2	0,06
69	10 anos	FC	1,1	0,19
70	4 anos	F	1,5	0,12
71	6 anos	F	1,1	<0,03
72	3 anos	M	0,85	0,09
73	3 anos	F	1,3	0,05
74	4 anos	M	0,67	0,06
75	1 ano	M	2,2	<0,03
76	8 anos	FC	2,7	0,12
77	9 anos	M	1,5	0,06
78	7 anos	M	1,3	0,19
79	3 anos	F	3,2	0,07
80	6 anos	F	1,8	0,09
81	4 anos	F	1,2	0,07
82	8 meses	F	1,5	<0,03
83	5 anos	M	2,7	0,13
84	3 anos	F	2,5	0,06
85	2 anos	F	2,3	0,04
86	2 anos	F	2,1	0,07
87	4 anos	F	1,3	0,03
88	8 anos	F	2,3	0,1

89	7 anos	M	0,93	0,33
90	6 anos	M	1,3	0,11
91	5 anos	M	1,4	0,12
92	1 ano	M	1,6	0,09
93	1 ano	F	1,3	0,14
94	4 anos	F	1,2	0,18
95	2 anos	F	1,5	0,15
96	1 ano	F	2,1	0,22
97	1 ano	F	1,3	0,08
98	1 ano	F	2	0,09
99	1 ano	F	1,6	0,13

Legenda (Anexo 3):

F: Fêmea

FC: Fêmea Esterilizada

M: Macho

MC: Macho Castrado

Intervalos laboratoriais de referência:

tT4: 1,3 – 2,9 µg/dL

TSH: 0,0 – 0,65 ng/mL